

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN-TARAPOTO

FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS

DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL

ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA



TESIS

**“EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES A PLANTONES DE CAFÉ (*Coffea arabica*),
VARIEDAD CATURRA A NIVEL DE VIVERO EN LA REGIÓN SAN
MARTÍN”**

PARA OPTAR EL TÍTULO PROFESIONAL DE:

INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTADO POR:

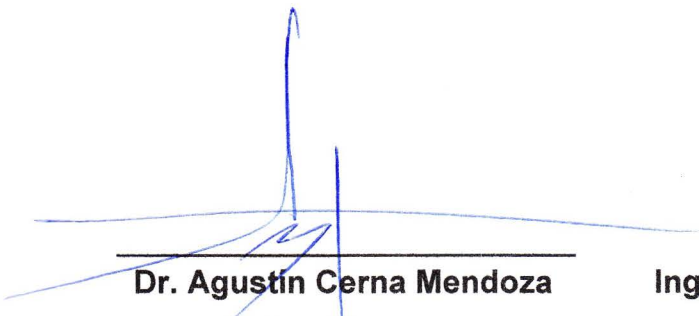
Bach.: KAREN MARILÚ DEL AGUILA PARILLO

**Tarapoto – Perú
2016**


UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO
FACULTAD DE CIENCIAS AGRARIAS
DEPARTAMENTO ACADÉMICO DE AGROSILVO PASTORIL
ESCUELA PROFESIONAL DE AGRONOMÍA

TESIS

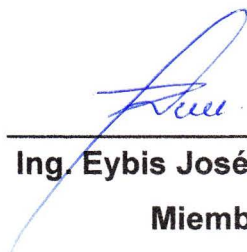
**“EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS
ARBUSCULARES A PLANTONES DE CAFÉ (*Coffea arabica*),
VARIEDAD CATURRA A NIVEL DE VIVERO EN LA REGIÓN SAN
MARTÍN”**



Dr. Agustín Cerna Mendoza
Presidente



Ing. M. Sc. Armando Duval Cueva Benavides
Secretario



Ing. Eybis José Flores García
Miembro



Dr. Winston Franz Ríos Ruiz
Asesor

TARAPOTO – PERÚ

2 016



UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN MARTÍN - TARAPOTO

Unidad de Bibliotecas Especializada y Biblioteca
Central

FORMULARIO DE AUTORIZACIÓN NO EXCLUSIVO PARA PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA EN REPOSITORIO DIGITAL

1. DATOS PERSONALES

Apellidos y Nombres: KAREN MARILÚ DEL AGUILA PARILLO		DNI : 46473174
Domicilio: Jr. Coronel Secada 240 - Moyobamba		
Teléfono 949518269	Correo Electrónico: marilu.parillo@outlook.com	

2. DATOS ACADÉMICOS

Facultad: CIENCIAS AGRARIAS
Escuela Académico Profesional : AGRONOMÍA

3. DATOS DE LA TESIS

Título: "EFECTO DE LA INOCULACIÓN DE HONGOS MICORRÍZICOS ARBUSCULARES A PLANTONES DE CAFÉ (<i>Coffea arabica</i>) VARIEDAD CATURRA A NIVEL DE VIVERO EN LA REGIÓN SAN MARTÍN"
Año de Publicación 2017

4. AUTORIZACIÓN DE PUBLICACIÓN EN VERSIÓN ELECTRÓNICA

A través de la presente autorizo a la Unidad de Bibliotecas Especializadas y Biblioteca Central –UNSM – T, para que publique, conserve y sin modificar su contenido, pueda convertirla a cualquier formato de fichero, medio o soporte, siempre con fines de seguridad, preservación y difusión en su Repositorio Institucional su obra a texto completo el citado título (Resolución Rectoral N°212-2013-UNSM/CU-R).

KAREN MARILÚ DEL AGUILA PARILLO
DNI 46473174

Fecha de recepción: ____/____/____

DEDICATORIA

“Al Padre Eterno; que nos ama infinitamente, que nos habla desde adentro, que nos busca sin cansancio y que se deleita cuando uno decide amarlo”.

“A Juan Alonso y a Nelly Lucía, mis pilares y ejemplos a seguir, la bendición del Padre para conmigo, al darme como papá a aquel agricultor que forjó con disciplina el respeto a uno mismo y hacia los demás y como mamá a aquella enfermera que me cuidó y me brindó templanza con su amor paciente”. A mis hermanos Alonso, Sheryl Soraya y Juan Edmundo, con los que aprendí a confiar y a ser valiente; a mis queridos tíos Ruth Juana y Pedro José, cuyas palabras oportunas me animaron a continuar, a mis primos Karumi, Pepe y Jhonatan, por su apoyo incondicional y a mis queridos sobrinos cuya dulce sonrisa me provoca siempre sonreír también. A todos ellos con amor”.

“Al labriego que se levanta con el sol, que labora con esfuerzo, que se apresura en el atardecer y que se fortalece en fe por un nuevo amanecer”.

“A usted estimado lector, con el cual se concreta uno de los más valiosos fines de la investigación, el hecho de que usted conozca sus resultados”.

AGRADECIMIENTO

- A los docentes de la Facultad de Ciencias Agrarias de la Universidad Nacional de San Martín – Tarapoto, por contribuir a mi formación profesional en el campo de la Agronomía.
- Al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana (IIAP), por confiarme la oportunidad de realizar esta investigación.
- Al Dr. Winston Franz Ríos Ruiz, por el asesoramiento en esta tesis.
- Al Ing. M. Sc. Luis Alberto Arévalo López, por brindarme todo lo necesario para realizar el este trabajo de investigación.
- Al Ing. M. Sc. Geomar Vallejos Torres, por su ayuda oportuna y las facilidades brindadas en el desarrollo de la tesis.
- Al Ing. M. Sc. Mike Anderson Corazón Guivin, por guiarme pacientemente en cada duda durante el desarrollo de esta tesis, por su amistad y por compartir su entusiasmo por la investigación.
- Al Ing. M. Sc. Kadir Márquez Dávila, Al Dr. Celerino Robles Pérez, al Dr. Pedro Ruíz Cubillas, al Ing. Cristian Koch Duarte, al Ing. M. Sc. Ginsberg Rodríguez del Castillo y a la Dra. Alejandra Becerra, por sus valiosos aportes y ayuda brindada en el desarrollo de la tesis.
- A la Ing. Diana Ayala Montero y al Ing. Herry Ruiz Sol Sol, por el apoyo preciso al momento de tomar decisiones en el proceso de la investigación.
- A mis queridos amigos Estefith, Wellington, Cecilia, María, Lorena, Sulber, Roy, Alexis, Alindor, Javier, Guin, Jimmy, Francis, Carlos, Jean Louis, Ronald, Jaime, Laura, Fiorella, Samy, Elias, Omar, Janin, Zully, Merly, Némesis, Miguel, Rolando, Maelo, Eli y Maricruz.

ÍNDICE

	Página
I.INTRODUCCIÓN	01
II.OBJETIVOS	02
III.REVISIÓN DE LITERATURA	03
3.1. Generalidades del Cafeto	03
3.1.1. Importancia de la producción cafetalera	03
3.1.2. El café en la región San Martín	04
3.1.3. Taxonomía del cafeto	04
3.1.4. Morfología del cafeto	05
3.1.5. Características de la especie Arábica	06
• Variedad Caturra	07
3.1.6. Desarrollo y crecimiento del cafeto	07
• Germinación a trasplante	08
3.1.7. Consideraciones para selección de semilla de cafeto	10
3.2. Micorrizas	10
3.2.1. Tipos de Micorrizas	11
3.2.2. Hongos Micorrízicos arbusculares (HMA)	11
3.2.3. Taxonomía de los HMA	13
3.2.4. La simbiosis de los HMA con la rizósfera del cafeto	14
3.2.5. Efectos de la simbiosis de los HMA en el cafeto	15
3.2.6. Colonización de los HMA	18
3.2.7. Estructuras de los HMA	21
3.2.8. Fuentes de inóculo de HMA	26
3.2.9. Multiplicación de los HMA	27

3.2.10. Factores abióticos relacionados a la simbiosis de los HMA	28
3.2.11. Ventajas y beneficios de la colonización de HMA	31
3.2.12. Ciclo de vida de las micorrizas	34
IV.MATERIALES Y MÉTODOS	36
4.1. Ubicación del estudio experimental	36
4.2. Conducción del experimento	36
4.2.1. Obtención de las fuentes de inóculo	36
4.2.2. Instalación e implementación de camas de multiplicación de hongos micorrizícos arbusculares nativos (HMA-N)	39
4.2.3. Multiplicación de hongos micorrizícos arbusculares nativos	40
4.2.4. Cuantificación de esporas de HMA	41
4.2.5. Colecta de granos de cafeto en campo	43
4.2.6. Siembra de semillas de cafeto	43
4.2.7. Sustrato de vivero y solarización	44
4.2.8. Preparación del sustrato para las plantas de cafeto	46
4.2.9. Colecta de inóculos micorrizícos de HMA-N	46
4.2.10. Inoculación de HMA-N a plantones de cafeto	47
4.2.11. Determinación del porcentaje de colonización micorizica	48
4.2.12. Determinación de la longitud de micelio extrardical (MER)	50
4.3. Diseño estadístico	52
4.4. Variables evaluadas	53
V.RESULTADOS	61
VI.DISCUSIÓN	74

VII.CONCLUSIONES	90
VIII.RECOMENDACIONES	91
IX.RESUMEN	92
X.SUMMARY	93
XI.REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	94
ANEXO	

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Mapa de las provincias del departamento de San Martín en las que se realizó el muestreo de las fuentes de inóculo de HMA-N.	39
Figura 2: A) Preparación del sustrato. B) Sustrato homogenizado en las camas de multiplicación de HMA-N. Del Aguila K. (2014).	40
Figura 3: A) Cultivo trampa (maíz), para la multiplicación de HMA-N. B) Fertilización. Del Aguila K. (2014).	42
Figura 4: A) Cosecha de granos. B) Despulpado manual. C) Secado de granos de cafeto. Del Aguila K. (2014).	43
Figura 5: A) Cama almaciguera para semillas de cafeto. B) Esterilización con agua hirviendo. Del Aguila K. (2014).	44
Figura 6: A) Planta de café. B) Siembra de semillas de cafeto (<i>Coffea arabica</i> L.). Del Aguila K. (2014).	44
Figura 7: A) Colecta de tierra negra. B) Tamizado de tierra negra. Del Aguila K. (2014).	45
Figura 8: A) Tierra negra. B) Riego hasta la capacidad de campo. C) Cierre hermético de la tierra negra. Del Aguila K. (2014).	45
Figura 9: A, B y C: Proceso de preparación del sustrato y llenado de bolsas almacigueras. Del Aguila K. (2014).	46
Figura 10: A, B, C y D: Proceso de obtención del inóculo de HMA-N Nativos. E) Tratamientos. Del Aguila K. (2014).	47
Figura 11: A, B y C: Proceso de repique e inoculación de esporas de HMA-N. Del Aguila K. (2014).	47
Figura 12: Niveles de colonización (0-5) según el grado de colonización del hongo, método de Trouvelot, <i>et al.</i> , 1986.	49
Figura 13: Plantas de cafeto (<i>Coffea arabica</i> L.). A) Altura de planta. B) Plantones de cafeto. C) Obtención del sustrato y planta completa. D) Cafetos de todos los tratamientos. Del Aguila K. (2015).	54

Figura 14: Obtención de muestras biológicas de cafeto. A) Planta de cafeto. B) Raíces de cafeto. C) Sustrato. D) Conservación de raíces en alcohol al 50%. Del Aguila K. (2015).	55
Figura 15: Plantas de cafeto (<i>Coffea arabica</i> L.). A y B) Planta de cafeto preparada para la medición de biomasa. C) Medición de biomasa seca en la balanza analítica. Del Aguila K. (2015).	55
Figura 16: Hojas de cafeto (<i>Coffea arabica</i> L.). Del Aguila K. (2015).	56
Figura 17: Determinación de la longitud de micelio extraradical. Del Aguila K. (2015).	56
Figura 18: Procedimiento de tinción de raíces de cafeto. A) Muestras de raíces en KOH al 10%. B) Muestras de raíces en baño María. C) Intercambio de KOH con H ₂ O ₂ . D) Raíces teñidas con Azul de Tripiano. Del Aguila K. (2015).	57
Figura 19: <i>Glomus brohultii</i> .	59
Figura 20: <i>Glomus fuegianum</i> .	59
Figura 21: <i>Claroideglomus claroideum</i> .	59
Figura 22: <i>Rhizophagus fasciculatus</i> .	59
Figura 23: <i>Glomus</i> sp. *	59
Figura 24: <i>Acaulospora</i> sp.	59
Figura 25: <i>Acaulospora denticulata</i> .	59
Figura 26: <i>Acaulospora laevis</i> .	59
Figura 27: <i>Acaulospora mellea</i> .	59
Figura 28: <i>Glomus</i> sp. **	60
Figura 29: <i>Funneliformis mosseae</i> .	60
Figura 30: <i>Funneliformis geosporum</i> .	60
Figura 31: <i>Acaulospora excavata</i>	60
Figura 32: <i>Acaulospora tuberculata</i> .	60

Figura 33: Esporas de HMA-N en el sustrato de las camas de multiplicación del maíz. A y B: Esporas agrupadas en forma de racimo. Del Aguila K. (2014).	61
Figura 34: Comparación de raíces teñidas con azul de Tripano en raíces de cafeto. A) Raíz no colonizada con HMA-N (Tratamiento Testigo). B) Raíz colonizada por los HMA-N. Del Aguila K. (2015).	63
Figura 35: Comparación de micelio de HMA-N en raíces de cafeto. A) Micelio intraradical. B) Micelio extraradicular de HMA-N. Del Aguila K. (2015).	63
Figura 36: Vesícula de HMA-N en raíz de Cafeto. Del Aguila K. (2015).	63
Figura 37: A y B, Micelio extraradicular de HMA-N en raíz de Cafeto. Del Aguila K. (2015).	65
Figura 38: Plantas de Cafeto (<i>Coffea arabica</i>). Del Aguila K. (2015).	67
Figura 39: Hojas de plantas de Cafeto (<i>Coffea arabica</i>). Del Aguila K. (2015).	69
Figura 40: Plantas de Cafeto (<i>Coffea arabica</i>), para el análisis de biomasa. Del Aguila K. (2015).	72

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1. Coordenadas del muestreo de las fuentes de inóculo de HMA-N de nueve zonas agroecológicas según provincias. 2014.	38
Cuadro 2: Ubicación del lugar de colecta de las semillas de cafeto.	43
Cuadro 3. Descripción de tratamientos según zonas de muestreo. 2014.	53
Cuadro 4. Análisis de sustrato utilizado en vivero.	57
Cuadro 5. Especies de HMA-N según las Fuentes de Inóculo.	58
Cuadro 6. Cuantificación de esporas HMA-N en diez gramos de suelo por cama de multiplicación, según la procedencia. 2014.	61
Cuadro 7. Análisis de varianza para el porcentaje de colonización de las plantas de cafeto. Datos transformados “(ASeno X/100)”.	62
Cuadro 8: Análisis de varianza para la longitud de micelio extraradicular de las plantas de cafeto.	64
Cuadro 9: Análisis de varianza para la altura de las plantas de cafeto.	66
Cuadro 10. Análisis de varianza para el área foliar de las plantas del cafeto. Datos transformados “(\sqrt{X})”.	68
Cuadro 11. Análisis de varianza para la biomasa seca aérea de las plantas de cafeto. Datos transformados. “($\sqrt{X+1}$)”.	70
Cuadro 12: Análisis de varianza para la biomasa seca radicular de las plantas de cafeto. Datos transformados “($\sqrt{X+1}$)”.	71
Cuadro 13: Análisis de correlación lineal de Pearson entre la longitud de micelio extraradicular y las variables morfológicas evaluadas de las plantas de cafeto.	73

ÍNDICE DE GRÁFICOS

	Página
Gráfico 1. Prueba de Tukey ($P < 0,05$), para el porcentaje de colonización. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	62
Gráfico 2: Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la longitud de micelio extraradicular. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	64
Gráfico 3. Prueba de <i>Tukey</i> ($P < 0,05$) para la altura de planta. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	66
Gráfico 4. Prueba de <i>Tukey</i> ($P < 0,05$) para el área foliar. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	68
Gráfico 5. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la biomasa seca de la parte aérea. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	70
Gráfico 6. Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la biomasa seca radicular. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.	71

ANEXO

- ✓ Descripción de datos meteorológicos de la provincia de Lamas – San Martín.
- ✓ Descripción de datos meteorológicos de la provincia El Dorado – San Martín.
- ✓ Descripción de datos meteorológicos de la provincia de Moyobamba – San Martín.
- ✓ Análisis físico químico de las zonas de muestreo de HMA-N. Universidad Agraria La Molina (UNALM).
- ✓ Condiciones de temperatura y humedad relativa en Vivero de plantones de Cafeto.

I. INTRODUCCIÓN

Cuando pensamos en café, inmediatamente nos imaginamos a la bebida de sabor atrayente para comenzar el día o para tomarnos una pausa en la que podamos pensar y conversar; pero el café es más que eso, representa toda una historia tanto política, económica como social, porque desde su descubrimiento comenzó a formar un estilo de vida en las personas desde los productores hasta los consumidores, tal es así que el café se ha convertido en la segunda mercancía más importante después del petróleo a nivel de comercio internacional.

Actualmente, nuestro país es el segundo productor de café orgánico, y aunque su cultivo representa cierta incertidumbre económica, debido al cambio climático, la aparición de plagas o enfermedades, la dependencia de agroquímicos, incluyendo el desinterés en la adopción de innovaciones tecnológicas o de estrategias biológicas como los hongos micorrízicos arbusculares con múltiples beneficios, concluimos que su potencial productivo yace en las manos del caficultor.

En ese sentido este estudio está orientado a demostrar, que el uso de hongos micorrízicos arbusculares en la producción de plantones de cafeto tiene múltiples beneficios como la absorción de nutrientes y agua, protección frente a patógenos que garantizan la obtención de plantas vigorosas con características morfológicas ideales para su trasplante a campo definitivo; así como también dar a conocer la evolución de las estructuras de los hongos micorrízicos arbusculares en sus raíces, con la finalidad de que sus resultados sean compartidos con los principales actores de la cadena productiva del café que son, los agricultores.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo General

- Contribuir al conocimiento del efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares a plantones de café, (*Coffea arabica* L.) Variedad Caturra, a nivel de vivero en la región San Martín.

2.2. Objetivos específicos

- Colecta y multiplicación de hongos micorrízicos arbusculares de nueve zonas de la región San Martín.
- Determinar el efecto de nueve fuentes de inóculo de hongos micorrízicos arbusculares en la morfología de los plantones de café (*Coffea arabica* L.) Variedad Caturra.
- Determinar el porcentaje de colonización radicular y la longitud de micelio extrarradical de nueve fuentes de inóculo de hongos micorrízicos arbusculares en las plantas de café (*Coffea arabica* L.) Variedad Caturra.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Generalidades del Cafeto

3.1.1. Importancia de la producción cafetalera

El café es el principal producto agrícola de exportación en el Perú; el área cultivada se estima en 420 000 hectáreas a lo largo de la vertiente oriental de los Andes. (Ministerio de Agricultura del Perú – MINAGRI – San Martín, 2015). La Asociación Americana de Cafés Especiales (SCAA-2015), ratificó al Perú como el segundo productor y exportador mundial de café orgánico detrás de México, lo que permitió conquistar casi 50 países, además de ser el principal abastecedor de Estados Unidos bajo el sello de Comercio Justo, abarcando el 25% de este nicho de mercado.

Así mismo, el café tiene gran importancia social, ya que su cultivo sirve de sustento a 223 000 familias de pequeños productores, generando más de 54 millones de jornales directos y 5 millones de jornales indirectos en la cadena productiva. (MINAGRI, 2015).

Este cultivo perenne contribuye a la conservación de los suelos, la creación de condiciones para reforestar con diferentes especies, el reciclaje de nutrientes y cuando se trata de una caficultura orgánica evita la contaminación con agroquímicos y la estabilidad de los ecosistemas (Zapata, 2012).

3.1.2. El café en la región San Martín

San Martín conjuntamente con Cajamarca y Amazonas, constituyen la zona norte cafetalera del Perú. En nuestra región se produce café entre los 600 a 1800 m.s.n.m.m., en 10 provincias. Respecto a las variedades cosechadas se encuentran: Caturra, Típica, Pache, Catimor y Bourbon, y la edad promedio de las plantaciones es de 15 años (Hoyos, 2013).

La superficie cultivada de cafeto en San Martín incrementó hasta 103 354 hectáreas, las cuales representan aproximadamente el 24,6% a nivel nacional (MINAGRI, 2015).

3.1.3. Taxonomía del cafeto

El cultivo de café según Charrier y Berthaud (1985), se clasifica de la siguiente manera:

Reino	: Plantae
División	: Magnoliophyta
Clase	: Dicotyledoneae
Orden	: Rubiales
Familia	: Rubiaceae
Género	: Coffea
Especie	: <i>Coffea arabica</i>

3.1.4. Morfología del cafeto

El cafeto pertenece a la familia de las rubiáceas. *Coffea arabica* crece como arbusto; las flores son blancas y no dependientes de polinización por terceros agentes. El ovario se convierte en un carozo ovalado, constituido de dos semillas y necesita de 6 a 8 meses para completar su maduración. La cereza madura, cuya pulpa es dulce, de color rojo o amarillo, contiene semillas (más propiamente conocidas como "granos de café"), las cuales están bordeadas por pulpa, cáscara, y todo ello encerrado en una envoltura pergamínea (Augstburger, Berger, Censkowsky, Heid, Milz y Streit, 2000). Así mismo Duke (1983), menciona que por lo general son dos las semillas dentro de la drupa, éstas son elipsoidales y comprenden de 8,5 a 12,5 mm de largo de la superficie, interior profundamente acanalados, que consiste principalmente en endospermo córneo verde y pequeño embrión.

Las raíces del cafeto son: pivotante, axilares o de sostén, laterales y raicillas; su tallo, es leñoso, erecto y de longitud variada de acuerdo con el clima y de tipo de suelo; en las variedades comerciales varía entre 2 y 5 m de altura. Las ramas o bandolas, llamadas también ramas laterales o ramas primarias, son opuestas y alternas y dan origen a las ramas secundarias; pueden originar a su vez, ramificaciones terciarias o palmillas. La lámina de la hoja mide de 12 a 24 cm de largo por 5 a 12 cm de ancho, variando su forma de elíptica a lanceolada; el tamaño no sólo varía entre especies y cultivares, sino también de acuerdo con las condiciones de sombra o plena exposición de sol a las que esté sometida

la planta, mencionado por el Instituto del Café de Costa Rica, s.f.e. [En línea].

La raíz desempeña funciones de anclaje de la planta y de explorar el suelo, ésta obtiene el agua y nutrientes de origen mineral y algunos de origen orgánico. Almacena reservas en forma de almidón y azúcares solubles. Las raíces dependen de las hojas para obtener alimentos derivados del proceso de la fotosíntesis y de hormonas para poder crecer y desarrollarse (Asociación Nacional de Café - ANACAFE, 1988).

La producción de café se ve influenciada por el medio en que se desarrolla, ejercen influencia sobre él, factores como temperatura e intensidad lumínica y cuando éstos se ven afectados ejercen influencia directa sobre la fisiología de la planta en sus diferentes etapas (Carvajal 1972).

3.1.5. Características de la especie Arábica

Coffea arabica es nativa de las tierras altas de Etiopía, en elevaciones que oscilan entre los 1 350 y los 2 000 m.s.n.m.m. Se trata de un arbusto de hojas lustrosas, relativamente pequeñas, de forma oval o elíptica, acuminadas, agudas en la base y algunas veces un tanto onduladas (Baker y Rivas, 1992).

- **Variedad Caturra**

La variedad Caturra (roja y amarilla), son mutantes de la variedad de café “Bourbón” propagado en Brasil, e introducidas en el Perú a través de la ex Estación Experimental de Tingo María en 1950. Son de porte enano, destacan por su alta productividad, pero requieren de constante fertilización y podas productivas. El tamaño de grano, comparado con el Typica, es relativamente pequeño. En la mutante roja de Caturra los frutos adquieren un color rojo vinoso a la madurez, mientras que, en la mutante amarilla, un color amarillo. Esta última ha mostrado algo más de productividad, pero menor retención de los frutos maduros con relación a la “Caturra roja” (“Ficha técnica y comercial del café”, 2007 [En línea]).

Según Augstburger *et al.*, (2000), mencionan que la variedad Caturra en América del Sur, es un cafeto de porte bajo, con internodios cortos, hojas gruesas de color verde oscuro, que fue desarrollado para monocultivos. Se apropia bien para cultivos ecológicos de cuidado intensivo. Necesita más sol que otras variedades y poda sanitaria, y es mucho mejor en su rendimiento. Las plantaciones tienen un ciclo de vida corto, después de aproximadamente 20 años tienen que sustituirse. Los granos son de conveniente tamaño y calidad.

3.1.6. Desarrollo y crecimiento del cafeto.

El cafeto es un arbusto perenne. El número de años del ciclo de vida depende esencialmente del sistema de cultivo, pero por norma general se

puede aceptar que los cafetos permanecen entre 15 y 20 años en la plantación. Las características de disponibilidad de agua y temperatura, la variedad, factores nutricionales y hormonales son los que determinan el crecimiento. Pese a que el manejo del cultivo es diferente en cada región, se distinguen seis grandes etapas en el ciclo de vida del cafeto que son: de la germinación al trasplante (de dos a tres meses), el almácigo (de cinco a seis meses), del trasplante definitivo en campo a la primera floración (11 meses), de ahí en adelante las fases de crecimiento vegetativo y crecimiento reproductivo y por último la senescencia (“Sistemas de producción de café” Centro Nacional de Investigaciones de Café de Colombia - CENICAFÉ 2007 [En línea]).

- **Germinación a trasplante**

La primera fase del ciclo de vida del cafeto transcurre en un semillero o germinador, generalmente en campo, bajo sombra y protegidos de factores que pudieran disminuir la tasa de germinación. González (2007), mencionó que obtuvo rangos de germinación cercanos al 95% en laboratorio. Como norma general un metro cuadrado de germinador puede servir para un kilogramo de semillas de cafeto, obteniéndose 3500 plántulas por hectárea. (“Sistemas de producción de café” CENICAFÉ 2007 [En línea]). El almacigado de semillas realiza en sustrato de arena (capa de 20 – 30cm de espesor). (“Componente recursos naturales”, Arcos y Sigrun 2007 [En línea]).

La aparición de la radícula se produce entre el día cinco y seis de la siembra en condiciones óptimas (30°C y oscuridad) y el 50% de las semillas ya muestra la radícula a partir del día diez (González 2007). A partir del día 15, la mayoría de las semillas han completado la germinación. La emergencia se produce entre los 50 y los 60 días post – siembra (González 2007).

El repique de plantas de cafeto se realiza principalmente cuando las plántulas se encuentran en el estado de "cabeza de fósforo" (antes de la salida de la hoja cotiledonal), en esa etapa desarrollan con mayor facilidad, y se logran los mayores porcentajes de sobrevivencia (90 – 95%). Algunos tienen preferencia en el repique de plántulas de café cuando se encuentran en el estado de "oreja de cuy" (plántulas con hojas cotiledonales) ("Componente recursos naturales", Arcos y Sigrun, 2007 [En línea]).

La necesidad de que esta etapa se realice en vivero es principalmente debido a que los semilleros deban permanecer en oscuridad o con abundante sombra es debido al hecho de que la luz blanca retrasa la germinación de las semillas. Así mismo se conoce que esta sensibilidad de las semillas de café es debido a su origen como planta de sombra (González 2007).

3.1.7. Consideraciones para selección de semilla de cafeto.

Una planta, para ser seleccionada, no debe superar los 10 años de edad y debe reunir características agronómicas de flexibilidad (los tallos y ramas lo suficientemente flexibles como para evitar la rotura y desgajes durante la cosecha), buena arquitectura (los cafetos deben tener preferentemente varios tallos productivos y ser de altura adecuada que permita realizar labores de manejo y cosecha eficientemente), ramas largas y entrenudos cortos que indican alta capacidad de carga de frutos (Camayo, Chaves y Jaramillo, 2003).

3.2. Micorrizas

El término micorriza fue propuesto por primera vez en 1885, por Albert Bernard Frank, quien descubrió la asociación regular de tejidos fungosos, con el tejido radical de los árboles (Sánchez, 1999); los descubrimientos fósiles, en los que se han encontrado micorrizas conocidos como “fósiles endomicorrizales”, hacen pensar que este tipo de asociaciones han podido ser cruciales para permitir la colonización terrestre de las plantas y que su existencia data de hace mucho tiempo atrás (Sempere y Santamarina 2001).

Se conoce con el nombre de micorriza a la asociación mutualista establecida entre las raíces de la mayoría de las plantas (tanto cultivadas como silvestres), y ciertos hongos del suelo. Es una relación beneficiosa para los dos organismos implicados, el hongo coloniza la raíz de la planta y le proporciona nutrientes minerales y agua que extrae del suelo por medio de su red externa de hifas, mientras que la planta suministra al hongo sustratos energéticos y carbohidratos

que elabora a través de la fotosíntesis. Se trata de una simbiosis universal, no sólo porque casi todas las especies vegetales son susceptibles de ser micorrizadas, sino también porque puede estar presente en la mayoría de los hábitats naturales (Hernández 2003).

Investigaciones realizadas han logrado demostrar que las micorrizas son capaces de beneficiar al 95% de todas las especies vegetales existentes y que su aplicación produce mejoras significativas para el crecimiento de árboles nativos, frutales (café, banano), cultivos agrícolas (hortalizas, caña, palma, pastos para pastoreo y de corte) (Barea, 2003).

3.2.1. Tipos de Micorrizas

Los tipos de micorrizas se dividen sobre la base de sus asociaciones fúngicas los cuales implica endófitos con estructuras fúngicas cenocíticas pertenecientes a la división Glomeromycota, y aquellos cuyas estructuras tienen septos pertenecientes a Basidiomycota y Ascomycota.

Los tipos de micorriza son: Arbuscular, Ectomicorriza, Ectendomicorriza, Arbutioide, Monotropoide, Ericoide y Orquideoide. De esta clasificación sólo las micorrizas arbusculares pertenecen a la división Glomeromycota, lo que quiere decir que son las únicas que presentan estructuras fúngicas cenocíticas (Smith y Read, 2008).

3.2.2. Hongos Micorrízicos arbusculares (HMA)

Los HMA son simbiosiontes obligados que establecen interacción con las plantas y tienen como principal contribución la de facilitar la adquisición

de nutrientes minerales, particularmente fósforo (Harrison, 2005). Se ha planteado que las plantas micorrizadas reciben todo el fósforo por la vía de esta simbiosis (S. Smith, F. Smith y Jakobsen 2003).

Los HMA existen en el suelo como esporas y germinan independientemente de la presencia de una planta, la hifa germinada crece a través del suelo en busca de una raíz hospedante y una vez establecido el contacto entre los simbioses, el hongo forma el apresorio en la superficie de la raíz. (Cavagnaro, Gao, A. Smith y S. Smith, 2001).

Desde la germinación de la espora individual hasta la formación de una red de hifas, existe una secuencia de eventos morfogénicos representados por la germinación de esporas y crecimiento micelial presimbótico, patrones de ramificación diferencial de la hifa en presencia de raíces hospedantes, formación del apresorio, colonización radical, desarrollo del arbúsculo, crecimiento micelial extrarradical y producción de esporas (Harrison, 2005).

En ausencia de un potencial hospedante (fase asimbiótica), el crecimiento hifal está limitado por las bajas cantidades de carbono almacenadas (Bago, Pfeffer y Shachar-Hill, 2000) y eventualmente cesa. Sin embargo, la espora retiene suficiente fuente carbonada para repetir la fase germinativa más tarde y encontrar un hospedante apropiado. En la vecindad de una raíz hospedante, se induce crecimiento hifal y aumenta la ramificación de ésta (Buee, Rossignol, Jauneau, Ranjeva y Becard

2000). Esta respuesta puede ser activada por los exudados de una raíz hospedante, pero nunca por exposición a una raíz no hospedante o sus exudados (Paszkowski, 2006).

3.2.3. Taxonomía de los HMA

La clasificación de los HMA experimentó grandes cambios después del análisis molecular filogenético basado en secuencias de Ácido Ribonucleico ribosómico (ARNr) conducidas por Schüßler, Schwarzott y Walker, como resultado, los HMA fueron removidos del polifilético Zygomycota y puestos en un nuevo grupo monofilético, los Glomeromycota. Este cambio puso a este grupo de organismos al mismo nivel de los grupos clásicos Basidiomycota y Ascomycota. Así mismo ellos también propusieron tres nuevos órdenes y varias familias separadas del anterior Glomerales. (Schüßler, Schwarzott y Walker, 2001)

Los análisis morfológicos y moleculares concomitantes han dado lugar a grandes avances en la organización taxonómica del phylum Glomeromycota. (Los hongos en este phylum son conocidos por formar micorriza arbuscular), de tal modo que a la fecha están descritas 3 clases, 5 órdenes, 14 familias y 29 géneros. (Oehl, Sieverding, Palenzuela, Ineichen y Alves da Silva, 2011). Adicional a esta información Schüßler, (2014), citado por Van der Heijden, Martin, Selosse y Sanders, (2014), añadió que las especies conocidas de Glomeromycota son en total 244.

3.2.4. La simbiosis de los HMA con la rizósfera del cafeto

El cafeto es un cultivo que de forma natural establece simbiosis con los HMA, necesitando de éstos para su establecimiento, por lo que es considerado un cultivo micotrófico obligatorio (Sieverding y Barea, 1991), que presenta una alta dependencia micorrízica (Siqueira y Franco, 1988). Para los cultivos que inicialmente se propagan en viveros, como el cafeto, ésta es una fase adecuada para efectuar la inoculación con hongos micorrizógenos, donde se combinan cantidades bajas de cepas eficientes y altamente competitivas (Rivera, F. Fernández, Hernández, Triana y K. Fernández, 2003).

El establecimiento de la simbiosis requiere de un desarrollo coordinado que involucra la diferenciación de ambos simbioses para crear una nueva interfase dentro de las células de la raíz, que influyen sobre su desarrollo (Harrison, 2005).

Esta asociación simbiótica entre el hongo y la planta, actúa como un complemento de la raíz de la planta en la toma de nutrientes (Colozzi-Filho y Cardoso, 2000) especialmente en la absorción de fósforo (P), aumento de la tolerancia a condiciones de estrés abiótico, mejoramiento de la calidad del suelo, fijación de nitrógeno (N) (Barea, 2005), y aumento en la diversidad y productividad de las plantas.

Desde el punto de vista nutricional, el crecimiento de la planta debido al aumento en la absorción de P es el principal beneficio que obtiene de los

HMA, por la baja disponibilidad de este elemento, característico en los suelos tropicales (Blanco y Salas 1997). Sin embargo, si el P no es un elemento limitante en el suelo, la simbiosis puede llegar a ser reducida o hasta inhibida si se encuentran altos niveles en el suelo en un ecosistema determinado (Azcón-Aguilar y Barea, 1997).

3.2.5. Efectos de la simbiosis de los HMA en el cafeto

Según Sieverding (1991), los posibles determinantes de la eficiencia simbiótica están relacionados con el tipo de hongo micorrizógeno (tasa de crecimiento, translocación de nutrientes y metabolismo del P en el micelio externo, capacidad infectiva, tasa de crecimiento del endófito arbuscular y la producción de arbusculos en el micelio interno), con la planta hospedera (morfología de la raíz, tasa de crecimiento de las raíces, requerimientos nutricionales de las plantas, tasa fotosintética y tolerancia a las situaciones de estrés) y la interfase simbiótica (área de contacto entre los simbioses, tasa de toma de nutrientes y tasa de eflujo de carbohidratos).

Existe una elevada dependencia micorrízica del café en suelos de baja fertilidad y muy compactos, ejerciendo efectos benéficos en la nutrición, crecimiento y en la producción de granos de este cultivo, a pesar de esto, el uso de los HMA no es común entre los viveristas (Saggin-Junior, Siqueira, Guimaraes y Oliveira, 1995; Rivera, Fernández y Sánchez, 1997; citados por Escalona, 2002).

En contraste la aplicación de dosis crecientes de fósforo inorgánico disminuye la colonización micorrízica, y las plantas inoculadas presentan un mejor crecimiento y desarrollo que aquellas que son fertilizadas. Con el uso de los hongos micorrízicos puede sustituirse la adición de fertilizante durante la fase vivero, lo cual resulta en un beneficio para la economía de los viveristas, además de que la planta al salir a campo cuenta con un sistema biológico que le permite una mejor adaptación en el nuevo hábitat (Trejo, 1997).

Siqueira, Saggin-Junior, Colozzi-Filho y Oliveira (1995), encontraron que la inoculación con HMA de plantas de café influyen positivamente en su crecimiento en vivero y en la sobrevivencia y tolerancia al estrés al momento del trasplante. Así mismo Alarcón y Cerrato, (1999), mencionan que inocular los HMA a las plantas en su estado vegetativo es el mejor momento para establecer la simbiosis, porque habrá un mejor aprovechamiento de nutrientes, un ahorro en fertilizantes químicos y una manera de asegurar el mayor número de plantas vigorosas para el trasplante a campo definitivo.

Jiménez (1989), encontró que en viveros de café donde se inocularon varias especies de hongos, se registró un mayor crecimiento de plantas, como es en el caso de ensayos realizados con *Gigaspora margarita* en los que se obtuvieron crecimientos superiores a 200% con relación a las plantas no inoculadas y Trejo, Ferrera-Cerrato, García, Varela, Lara y Alarcón (2011) encontraron que, en condiciones controladas de

invernadero, los consorcios micorrízicos arbusculares incrementaron la altura de plantas de cafeto en 91% con respecto a plantas no inoculadas y a plantas fertilizadas con fósforo. Así mismo Siqueira, Colozzi-Filho, Saggin-Junior, y Guimaraes, (1993), afirmaron que en numerosas investigaciones se encontraron respuestas positivas a la inoculación tanto en la fase vegetativa como en la fase productiva por los buenos rendimientos obtenidos en las primeras cosechas de café. El área foliar según (Soto, 1994; Rivera *et al.*, 1997; Valencia, 1998; Fernández, 1999), es un índice que expresa adecuadamente la respuesta del crecimiento integrado de los plantones.

La Federación de Cooperativas Agroindustriales de Nicaragua - FENIAGRO (2010), afirma que con la aplicación de micorrizas arbusculares la producción de área foliar de cafeto en vivero se incrementa entre 10% y 263% con respecto a los tratamientos no inoculados. Fernández – Martín, Rivera-Espinosa, Hernández-Jiménez, Herrera-Peraza y Fernández-Suárez, (2005), en sus investigaciones realizadas en café variedad Catuaí en etapa de vivero, obtuvieron resultados con incrementos entre 6% y 140% de área foliar con respecto a plantas no inoculadas con Hongos Micorrízicos Arbusculares.

En cuanto a la producción de biomasa radicular, existen varios estudios realizados en invernadero que demostraron que la asociación simbiótica de los hongos micorrízicos en las raíces de las plantas producen diversos cambios y/o modificaciones a nivel fisiológico, como los incrementos en la

actividad fotosintética, ello debido a la mayor capacidad de fijación de dióxido de carbono (CO₂) y, lo que trae como consecuencia el incremento de las tasas de crecimiento y biomasa producida, que las plantas micorrizadas presentan en comparación con plantas no micorrizadas (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1996; Alarcón, Ferrera-Cerrato, Almaraz-Suárez y Villegas-Monter, 1997; Olalde, 1997). Así mismo Berta, Fusconi y Trotta, (1993); Aguín, Mansilla, Vilariño y Sainz, (2004), reconocen también que plantas micorrizadas incrementan la biomasa y el volumen radicular.

Si bien es cierto que los HMA son beneficiosos para el cultivo de cafeto, debemos tener en cuenta que la inoculación ya sea de una o varias especies pueden producir distintos efectos sobre el crecimiento de la planta, dependiendo de la compatibilidad funcional y de la especificidad ecológica entre ambos simbioses (Molina, Massicote y Trappe, 1992).

3.2.6. Colonización de los HMA

Según Franco (2008), existen varias etapas en el proceso de colonización de una micorriza por una raíz de una planta; a continuación, se describe cada uno de ellos:

A. Primera etapa: Se produce la diferenciación de la espora, propagación del hongo e identificación mutua entre la planta y el hongo, y viceversa, en la rizósfera, o en regiones próximas a las raíces nutricias o pelos radicales. Este reconocimiento lo facilitan, al parecer,

sustancias exudadas o emitidas por la raíz, que provocan el crecimiento del micelio y un biotropismo positivo del mismo hacia la raíz, al igual que ocurre con las interacciones planta – microorganismo con especies de los géneros *Rhizobium*.

B. Segunda etapa: Consiste en el acercamiento y acoplamiento progresivo y gradual del micelio a la raicilla, produciéndose el contacto intercelular, al formarse una estructura que adhiere a ambos especímenes.

C. Tercera etapa: Se realiza la colonización, produciéndose cambios morfológicos y estructurales tanto en los tejidos colonizados por el hongo, como en la organización de la pared celular de la raíz. Posteriormente se produce la integración fisiológica de ambos simbios (hongo-raíz), y por último se produce una alteración de las actividades enzimáticas, que se coordinan entre los simbios para integrar sus procesos metabólicos.

Este proceso de asociación para formar Micorrizas, provoca alteraciones morfológicas y anatómicas en las plantas colonizadas tales como: cambios en la relación tallo raíz, en la estructura de los tejidos radicales, en el número de cloroplastos, aumento de la lignificación, alteración de los balances hormonales, etc. Efectos que no son sólo explicables, como una simple mejora nutritiva de la planta, debido al aumento de eficacia en la absorción de nutrientes por la raíz, gracias a la formación de la Micorriza, sino que, responde a cambios

metabólicos más profundos y complejos, debidos a la integración fisiológica de los simbios. (Franco, 2008).

Una de las respuestas simbióticas de la planta con el hongo, es destinar fotosintatos en forma de sacarosa, para que el hongo pueda nutrirse heterotróficamente y para que pueda sintetizar azúcares propios tales como manitol, trehalosa, glicógeno. Aunque las asociaciones de micorrizas se consideran en general no específicas, es decir, que cualquier hongo simbionte puede colonizar cualquier planta receptiva; existen, sin embargo, algunas preferencias o una mejor afinidad compatible entre determinadas parejas hongo – planta (Harley, 1971).

Luego de haberse formado la micorriza, el hongo empieza a colonizar el interior de su hospedante formando hifas intraradicales, arbuscúlos y vesículas; existen varios métodos que ayudan a determinar el porcentaje de colonización de los HMA, siendo uno de ellos el método de Trouvelot, Kough, Gianinazzi-Pearson y Mesure (1986), que es la densidad visual de la ocupación de las estructuras del hongo en la raíz del macrosimbionte (Grace y Stribley, 1991). Sin embargo (McGonigle, Miller, Evans, Fairchild y Swan, 1990), afirman que el porcentaje de la colonización por HMA en las raíces del hospedante no determina la efectividad de los mismos.

A pesar de que el porcentaje de colonización no representa la efectividad de la simbiosis entre los HMA y las plantas, su determinación permite conocer y cuantificar visualmente las estructuras de los HMA que se forman a nivel intraradical. (Grace y Stribley, 1991). En investigaciones anteriores, autores como Escalona (2002) y Rivera *et al.*, (1997), reportaron valores del porcentaje de colonización en plantas de cafeto inoculadas en vivero de entre 23,6% a 42,96% y entre 21% a 54%, respectivamente.

3.2.7. Estructuras de los HMA

A. Esporas

Las esporas son la forma de conservación de los HMA en la naturaleza, y aunque el ciclo de vida de los HMA se puede iniciar de otros propágulos como redes de micelio y fragmentos de raíces colonizadas (Ordoñez, 2009), las esporas son más resistentes a las condiciones medioambientales y pueden entrar en latencia, mediante el engrosamiento de su pared, si éstas son desfavorables (Giovannetti y Gianiniazzi-Pearson, 1994; citado por Tena, 2002).

Estas esporas o clamidosporas son células reproductoras producidas asexualmente, que pueden estar individualmente en el suelo, en el interior de las raíces de la planta hospedera, o formando densas masas no estructuradas conocidas como esporocarpos.

En su mayoría, son de forma globosa (esférica) pero algunas especies tienen esporas ovaladas u oblongas; de ellas se desprende una hifa de

sustentación que en conjunto dan la apariencia de un globo con su hilo colgando. Las esporas son de diferentes colores: blancas, amarillas, pardas, etc. y su tamaño puede variar de 20 a 50 μm , y en las más grandes de 200 a 1000 μm (Brundrett, Bougher, Dell, Grove y Malajczuk, 1996). Son multinucleadas, contienen gotas de lípidos y otros contenidos los cuales varían en color y al romperse la espora en una lámina porta objetos se observa su arreglo en gotas pequeñas o grandes, lo cual puede ser una ayuda en la identificación del hongo. Las paredes de las esporas están formadas por una o más láminas, que varían en grosor, estructura, apariencia y tinción a reactivos, características que también ayudan al taxónomo a identificar la especie (Reyes, 2011).

B. Micelio extraradical de los HMA

Como ya se mencionó anteriormente, de las esporas emerge un filamento denominado hifa, y al conjunto de ellas se le conoce con el nombre de micelio, mediante el cual el hongo coloniza a su planta hospedadora. Durante el establecimiento de la simbiosis MA, el hongo coloniza la corteza de la raíz, y también desarrolla un extenso micelio externo que simula un sistema radical complementario y altamente efectivo, ayuda a la planta a adquirir nutrientes minerales y agua del suelo. A su vez, la planta hospedadora le proporciona al hongo fuentes de carbono procedentes de la fotosíntesis y un nicho ecológico protegido (Karandashov y Bucher, 2005; Smith & Read, 2008).

El micelio externo incluye micelio y esporas (Smith & Read, 2008). Inicialmente se producen hifas relativamente gruesas denominadas hifas exploradoras, que crecen de forma apical. Estas hifas sufren ramificaciones (hifas secundarias) que a su vez vuelven a ramificarse. Las hifas exploradoras son las responsables del avance del micelio y la extensión de la colonia fúngica. Este micelio externo funciona como un sistema radical complementario que se extiende más allá de la zona de agotamiento de nutrientes cercana a la raíz (Bucher, 2006). Su función es la búsqueda, absorción y transporte de nutrientes para la planta, especialmente aquellos de lenta difusión en la solución del suelo como son el fósforo, zinc, cobre y amonio. Es así que la determinación de la eficiencia o efectividad está asociada al micelio extraradical, cantidad de raíz colonizada (Hernández, Guadarrama, Sánchez, y Ramos, 2008), y ésta se define como la capacidad de influir favorablemente en la adecuación de una especie vegetal con los que los HMA están asociados, en comparación con otras que crecen en ausencia de ellos. (Herrera y Ferrer, 1984).

La simbiosis representa un alto costo para la planta, entre el 4% y el 20% del carbono fijado a través de la fotosíntesis es consumido por el hongo (Parniske, 2008; Wright, Scholes y Read, 1998). Sin embargo, las hifas del hongo son mucho más finas que las raíces y para la planta podría ser desgastante producir más raíces que establecer una simbiosis que le aporte beneficios nutricionales (Helgason y Fitter, 2009).

El carbono tomado de la planta, es usado para la producción de estructuras: esporas e hifas, dicho carbono, es absorbido en forma de hexosas por los arbúsculos intraradicales y son convertidos a lípidos y glicógeno que luego son exportados al micelio externo el cual no tiene la capacidad de absorber carbono del suelo (Smith & Read, 2008). Estos cambios originados por la simbiosis, evidencian su eficiencia en incrementos del área de exploración radical de las plantas y en la consiguiente absorción de nutrimentos, considerando que éstas se encuentren en una misma condición de disponibilidad de los mismos, de tal manera que presenten mayores o menores coeficientes de aprovechamiento y crecimiento, dependiendo de los consorcios micorrizicos inoculados. (Barea, Azcón-Aguilar, Ocampo y Azcón, 1991).

C. Arbúsculos

Los arbúsculos son hifas modificadas y se consideran la estructura central de la simbiosis micorrízica arbuscular, pues juegan un papel crucial en las principales funciones de la interacción, el mejoramiento de la nutrición de la planta y el biocontrol de patógenos del suelo (Franken, Dongue, Grunwald, Kost, Karl-Heinz, Tamasloukht, Waschke y Zeuske, 2007).

Normalmente los arbúsculos tienen un tiempo de vida corto, de 4 a 10 días, después de los cuales se degeneran y son digeridos por la célula hospedadora que vuelve a recuperar su apariencia y su función normal.

(Alexander, Meier, Toth y Weber, 1988; Bonfante-Fasolo & Grippiolo, 1984), citados por Ordoñez 2009.

Cuando el HMA coloniza la corteza de la raíz tiene lugar un intenso desarrollo intracelular del mismo, que alcanza su máxima expresión en la formación de los arbusculos (Bethlenfalvay 1992; Giovanneti y Gianinazzi-Pearson, 1994). El plasmalema de la célula hospedera no es perforado, sino que crece de tal forma que la hifa de penetración y todas sus ramificaciones quedan rodeadas por él. Debido a esta proliferación de las membranas del hospedero, que rodean estrechamente al arbúsculo, se produce una extensa superficie de contacto entre las células de ambos organismos (Harrison, 1997; Bethlenfalvay 1992). Los estudios histoquímicos han mostrado al arbúsculo como un órgano especializado, capaz de una gran actividad metabólica y muy bien adaptado para el intercambio de nutrientes entre el hongo y la planta (Giovanneti y Gianinazzi-Pearson, 1994). (Citados por Tena 2002).

D. Vesículas

Al mismo tiempo, o poco después de que se formen los arbúsculos, algunas especies de hongos MA forman vesículas intra y/o intercelulares. Las vesículas, son estructuras de forma diversa según la especie (redondeadas, ovoides, etc.) y de paredes finas que se producen por el hinchamiento terminal de las hifas. Estas estructuras almacenan gran cantidad de lípidos y actúan como órgano de reserva

del hongo en situaciones de estrés, como es la falta de carbohidratos (Smith & Read, 2008).

3.2.8. Fuentes de inóculo de HMA

Se conoce como fuente de inóculo de HMA a las zonas de las cuales se obtienen muestras de suelo y raíces de una especie vegetal seleccionada. Dichas muestras se colectan del suelo circundante de la planta, en las que se presume la existencia de diversas especies de HMA. (Ruiz, 2014). Diversas metodologías proporcionan criterios de muestreo para garantizar la presencia de los HMA. Por ejemplo, Hernández *et al.*, 2008, afirman que, si se desea obtener esporas distribuidas en las inmediaciones de una especie vegetal en particular, se debe tomar un volumen total de aproximadamente 1kg del suelo circundante a la planta, y dicha cantidad debe provenir de una profundidad no mayor a 25cm. Así mismo, también se pueden muestrear las raíces de la especie vegetal, teniendo en cuenta que éstas deberán ser las más finas posibles.

Según Robles, Robles-Martínez y Monroy-Díaz, (2008), se puede tomar muestras de suelo y raíz de varios individuos de la misma especie en una zona determinada. Para las muestras de suelo se toman submuestras de 500 g en cada punto cardinal de los individuos a una profundidad de 15 a 20 cm, las cuales se pueden mezclar para obtener muestras compuestas por individuo. Todos los autores, antes mencionados, coinciden en que las muestras deben ser colocadas en una bolsa de polietileno para su conservación a 4°C hasta su análisis posterior. Cabe señalar que los

autores también afirman que los protocolos de muestreo están sujetos a modificaciones de acuerdo a la especie vegetal seleccionada, así como de los objetivos de la investigación que se desee realizar.

3.2.9. Multiplicación de los HMA

La utilización de hongos micorrízicos es dificultoso debido a la naturaleza simbiótica obligada y a la dificultad de su cultivo en medios de laboratorio. La producción de inóculo de HMA ha evolucionado desde el uso original de los suelos infestados de campo a la práctica actual de usar inóculo cultivo en macetas o en áreas determinadas (camas de multiplicación), derivadas desde su extracción en campo (fuentes de inóculo). De esta manera los HMA requieren una asociación con las raíces de las plantas para completar su ciclo de vida; no así las plantas hospederas que pueden ser obligadas, facultativas o no micorrízicas. Además el hongo (organismo heterótrofo), al asociarse con una especie vegetal, obtiene un ambiente libre de competencia (en el interior de las raíces) y alimento por medio de los azúcares producidos por la planta durante la fotosíntesis. (Ramos, Facanha, Okorokov, Cruz, Silva, Siqueira, Bertolazi, Canton, Melo, Santos, Schimitberger y Okorokova-Facanha, 2011).

Por otro lado, las principales fuentes de inóculo de estos microorganismos corresponden a las esporas, el micelio externo de los HMA y a las raíces previamente colonizadas de plantas coexistentes o fragmentos de las preexistentes, siendo los fragmentos de raíz micorrizados el inóculo más

infectivo, sin embargo; las esporas aisladas, por su capacidad de supervivencia y mayor tolerancia a las situaciones adversas, son las principales responsables de perpetuar los HMA (Barea *et al.*, 1991). El proceso de inoculación de HMA es complejo ya que, por una parte, implica diseñar métodos de aislamiento, selección, multiplicación e incorporación, adecuados para cada especie o propósito. En cuanto a la etapa de multiplicación de los organismos micorrízicos se recomienda que la planta trampa debe ser una gramínea (Sieverding, 1984). Un ejemplo es el maíz que además de ser de rápido crecimiento, desarrolla una abundante raíz que es rápidamente infectada (Hayman, Barea y Azcón, 1976; Owusu-Bennoah y Mosse, 1979; Skipper y Smith, 1979).

Este sistema de multiplicación, conocido como cultivo trampa, permite multiplicar hongos nativos colectados en el campo y amplificar así la cantidad de esporas o promover la esporulación de los hongos escondidos en la muestra (Ferguson y Woodhead, 1982; Habte y Osorio, 2001).

3.2.10. Factores abióticos relacionados a la simbiosis de los HMA

La composición de especies de HMA, o la existencia de una comunidad, puede ser explicada como una respuesta a los cambios en la comunidad de plantas, ya que la naturaleza obligada de los simbios de HMA une el crecimiento y la reproducción tanto de la planta hospedera como del hongo a las condiciones del suelo (Adelman y Morton, 1986; Hendrix, Guo

y An, 1995; Sanders y Fitter, 1992). En estudios de campo, se ha mostrado que la secuencia de cosechas modifica la comunidad de HMA y la composición de especies. Las prácticas de manejo tales como la labranza (Evans y Miller, 1988), aplicaciones de fósforo o pesticidas, han demostrado que también influyen la esporulación y la colonización por HMA (Duke, Jackson y Caldwell, 1994; Medeiros, Clark y Ellis, 1994).

Los efectos de los HMA en plantas son dependientes de la planta hospedera y las condiciones ambientales (Smith y Read, 1997; Newsham, Fitter y Watkinson, 1995). Según Hermard, Labaca, Jeres, Sandoval y Ulloa (2002), entre los factores condicionantes se pueden mencionar los siguientes:

A. Luz

Al aumentar la intensidad luminosa el aumento de micorrizas es proporcional al número de raíces secundarias y terciarias posiblemente por un aumento en la disponibilidad de nutrientes, principalmente carbohidratos libres en las raíces.

B. Temperatura

La temperatura tiene una acción directa sobre el porcentaje de crecimiento radical y sobre la producción de nuevas raíces. La temperatura óptima para el crecimiento de las micorrizas varía entre 17 y 27°C.

C. Agua y Aireación

Las formaciones micorrízicas están influenciadas por la humedad del suelo y por la aireación. Se presume que el crecimiento del micelio decrece a una baja concentración de oxígeno debido a que la mayoría de estos hongos micorrízicos son aeróbicos. En efecto, la formación micorrízica se inhibe en suelos arcillosos debido a la dificultad de las raíces para penetrar en este, así como también por una pobre aireación.

D. pH

Con relación a este parámetro se ha encontrado que altos valores de micorrización (50% a 84%) están asociados a bajos valores de pH (3,5 a 4,2). Así mismo a nivel general se reportan niveles de tolerancia de distintos géneros a valores de pH entre 3 y 9 (Escobar, Zuluaga, Colorado y Paez, 1998). Barea y Jeffries (1995), argumentan que las micorrizas arbusculares tienen amplia adaptación a condiciones de pH (éstas se han encontrado en suelos con pH desde 2,7 a 9,2). Se han encontrado diferentes especies y ecotipos en cuanto a su capacidad para colonizar un hospedero en función del pH (Peña-Venegas, Cardona, Mazorra, Arguellez y Arcos, 2006).

Si bien es cierto que los factores abióticos influyen en la micorrización, también se conoce que la inoculación con comunidades nativas de Hongos Micorrízicos Arbusculares (consorcios nativos), registran alta eficiencia para establecer simbiosis con diversas especies vegetales y

condiciones ambientales en comparación con especies exóticas. (Requena, Jeffries y Barea, 1996; Pérez – Solís, 2001). De esta manera se da a conocer la gran capacidad de adaptación de especies nativas de HMA para colonizar plantas cultivadas a las condiciones edáficas y climáticas de una misma región (Robles, 2006).

3.2.11. Ventajas y beneficios de la colonización de HMA

Según Rojas (2010), nos indica que, las ventajas de la aplicación de micorrizas en un sistema agroecológico son:

- Mayor crecimiento y desarrollo de las plantas en beneficio de la adaptación y eficiencia de éstas al facilitar una mayor absorción de nutrientes minerales del suelo.
- Mejora el reciclado de nutrientes en el suelo.
- Aumenta la eficiencia de otros microorganismos que tienden a asociarse con ellas, tales como *Rizhobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, que a su vez incrementan la captación de nutrientes para las plantas.
- Mejora el control de enfermedades y por ende se facilita la disminución en gasto de insecticidas y funguicidas.
- Produce plantas más resistentes al ataque de patógenos.
- Facilitan la adaptación a suelos salinos.
- Contribuyen con la disminución de la erosión (Molina, Mahecha y Medina, 2005).

- Se incrementan la tasa fotosintética, potencial osmótico, conductancia estomática, reproducción y la transpiración (Smith y Read 1997; Augé 2001).
- Se incrementa la biomasa seca aérea y radicular (Abbott y Robson, 1991; Sieverding, 1991; Jasper y Davy, 1993; Allen, 1995). Ortas (1996), menciona que ello se debe a la distribución de los nutrientes a los tallos, los mismos que aumentan el consumo de fotosintatos en la parte aérea que se expresa en el aumento de biomasa.

En cuanto al crecimiento y desarrollo de la planta Koch, Tanami, Bodani, Wininger u Kapulnik, (1997), nos indican que la inoculación de HMA en plantas hace que la tasa de fotosíntesis se eleve notablemente en comparación con plantas no inoculadas, y puede atribuirse el incremento en el crecimiento de las plantas micorrizadas a dicho aumento de la actividad fotosintética.

La micorrización temprana del material vegetal confiere un beneficio inicial a las plantas micorrizadas en cuanto a supervivencia al trasplante y establecimiento en plantación (Camprubí y Estaún, 2000). Los efectos beneficiosos de la introducción artificial de inóculo micorrízico resultan más evidentes en suelos donde las poblaciones de hongos MA nativos no existen, o han sido eliminadas por empleo de prácticas agrícolas desfavorables para su desarrollo como la fumigación del suelo y el cultivo intensivo (Sieverding, 1991 citado por Hernández, 2000). Otros autores como Smith y Read, 1997, citados por Dávila, Ramos y Rosales, (2009),

afirman que la presencia de HMA en las raíces del hospedante con respecto a los incrementos de su tasa de crecimiento y producción de biomasa, tienen efectos mayores en suelos de baja fertilidad o desequilibrados nutricionalmente, especialmente cuando el contenido de fósforo asimilable es bajo.

Los efectos benéficos de las micorrizas son ampliamente conocidos e incluyen mejoras en la nutrición mineral e incrementos en la capacidad para superar los estrés bióticos y abióticos a través de una red de señales (M. Fujita, Y. Fujita, Noutoshi, Takahashi, Narusaka, Yamaguchi y Shinozaki, 2006), entre las vías de señales que se establecen, el sinergismo y antagonismo proveen un potencial regulatorio que permiten la inducción de mecanismos de defensa (Pozo y Azcón-Aguilar, 2007).

Según Sylvia y Williams (1992), los HMA son altamente adaptables a diferentes ambientes, sin embargo; Hart y Reader (2002), al trabajar con inoculaciones multiespóricas (esporas provenientes de varias especies de HMA), menciona que se puede encontrar diferencias en el comportamiento de sus respectivas colonizaciones y Barea (1991) hace referencia también al grado de especificidad entre los organismos simbióticos al que se le ha denominado compatibilidad.

La aplicación de los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) en los sistemas agrícolas, ofrece además cierto potencial en la reducción de las afectaciones producidas por patógenos y proveen otros beneficios entre

los que se encuentran, mejorar la nutrición del Fósforo (Paszkowski, 2006) y la tolerancia a la toxicidad de los metales (Hildebrandt, Regvar y Bothe 2007).

3.2.12. Ciclo de vida de las micorrizas

Según León 2006, los HMA son simbioses biotróficas obligados con un ciclo de vida dividido en dos etapas distintas. Por un lado, los estadios de reposo y reproductivo (esporas, esporocarpos, y posiblemente también vesículas), son independientes de la planta. Por otra parte, los estadios vegetativos están involucrados en interacciones complejas con las plantas entre las cuales se incluyen el reconocimiento, la colonización y el intercambio de nutrientes. Estas etapas son representadas por el desarrollo de hifas externas en el suelo e hifas espirales, arbuscúlos y vesículas dentro de la raíz. Es así que en la zona externa del córtex de la raíz forma unas estructuras intracelulares típicas que son los “ovillos”; en la zona media las hifas crecen normalmente de forma longitudinal en los espacios intercelulares; mientras que en la zona interna las hifas penetran intercelularmente y forman los arbuscúlos por ramificación dicotómica repetida a nivel de los cuales se produce el intercambio de nutrientes.

También habría que destacar la formación de vesículas en el córtex cuya función es el almacenamiento de reservas lipídicas. Tras la colonización interna se produce la ramificación y desarrollo del micelio externo que es la clave en la captación de nutrientes y da lugar a nuevos puntos de

colonización en la propia raíz o en otras próximas. Sobre la red tridimensional de hifas que constituye se forman las esporas, estructuras de resistencia que, al madurar completan el ciclo del hongo.

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1. Ubicación del estudio experimental

El estudio de investigación se realizó en el Vivero de Multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares Nativos (HMA-N), y en el Laboratorio de Micorrizas Arbusculares (LMA), ubicados entre las coordenadas 06° 28' latitud sur y 76° 22' longitud oeste, a una altitud de 330 m.s.n.m.m. Dichas infraestructuras pertenecen al Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – San Martín (IIAP-SM), y se encuentran en el distrito de Morales de la provincia de San Martín, departamento de San Martín.

4.2. Conducción del experimento

El estudio se realizó dentro del marco del proyecto llamado “Biorestauración de suelos con hongos micorrízicos nativos en fincas con cafés arábigos (*Coffea arabica* L.) En la Amazonía Peruana”, de acuerdo al contrato de subvención N° 146-2013, financiado por el Fondo Nacional de Desarrollo Científico y Tecnológico (FONDECYT), así mismo tuvo una duración de 15 meses, desde el mes de agosto (2014), hasta el mes de octubre (2015).

4.2.1. Obtención de las fuentes de inóculo

Se seleccionaron tres provincias de la región San Martín: Lamas, Moyobamba y El Dorado, en cada una de ellas se seleccionaron tres localidades distintas de acuerdo a la altitud.

En cada localidad se seleccionaron fincas cafetaleras en producción con las características idóneas según los criterios de selección de plantas para la obtención de fuentes de inóculo de HMA-N:

- Plantas de café mayores de tres años.
- Plantas sin signos de enfermedad.
- Plantas que pertenezcan a la misma variedad.
- Ausencia de aplicaciones fertilizadas en un periodo no menor a 1 año por lo menos, establecidos por Ruiz, (2014).

De cada localidad se seleccionaron tres plantas de cafeto (fuentes de inóculo); de las cuales se obtuvieron tres sub-muestras (una por cada planta), y cada sub-muestra fue de 1000g aproximadamente. Todas las sub-muestras se tomaron a profundidad de 0 a 15 cm, separadas a distancia de 30 cm del tallo principal en tres puntos diferentes; metodología correspondiente a la propuesta por Robles *et al.*, 2008. Las tres sub-muestras constituyeron una muestra compuesta representativa de cada zona de muestreo, es decir este procedimiento se repitió para cada una de las nueve zonas seleccionadas.

Las muestras de suelo fueron colocadas en bolsas de polietileno debidamente codificadas y fueron transportadas al LMA del IIAP – San Martín para que posteriormente sean utilizadas como el material biológico de multiplicación de HMA-N.

Cuadro 1: Coordenadas del muestreo de las fuentes de inóculo de HMA-N de nueve zonas agroecológicas según provincias. 2014.

Provincias	Localidades	Rango de altitud (msnmm)	Coordenadas del muestreo		Altitud (msnmm)
			X	Y	
Lamas	Chirapa	800-1000	338719	9290377	880
			338740	9290350	871
			338731	9290406	890
	Aviación	1000-1200	335398	9296201	1096
			335436	9296186	1102
			335423	9296201	1097
	Chontalillo	1200-1400	335485	9295567	1237
			335486	9295570	1236
			335474	9295558	1233
Moyobamba	Calzada	800-1000	268030	9336779	837
			268006	9336777	836
			268008	9336770	838
	Los Ángeles	1000-1200	276914	9345258	1025
			276923	9345284	1022
			276948	9345208	1019
	Potrerillo	1200-1400	285182	9319349	1290
			285176	9319363	1292
			285175	9319357	1293
El Dorado	Nueva Juventud	800-1000	307554	9286725	839
			307554	9286720	839
			307560	9286723	820
	Buena Vista	1000-1200	305838	9287451	1123
			305841	9287459	1123
			305836	9287463	1126
	Monte de los Olivos	1200-1400	304142	9289238	1395
			304137	9289249	1394
			304147	9289250	1395

Fuente: Proyecto Biorestauración de suelos con HMA-N en fincas cafetaleras con cafés arábigos (*Coffea arabica* L.) En la Amazonía Peruana. Mayo-Junio. 2014.

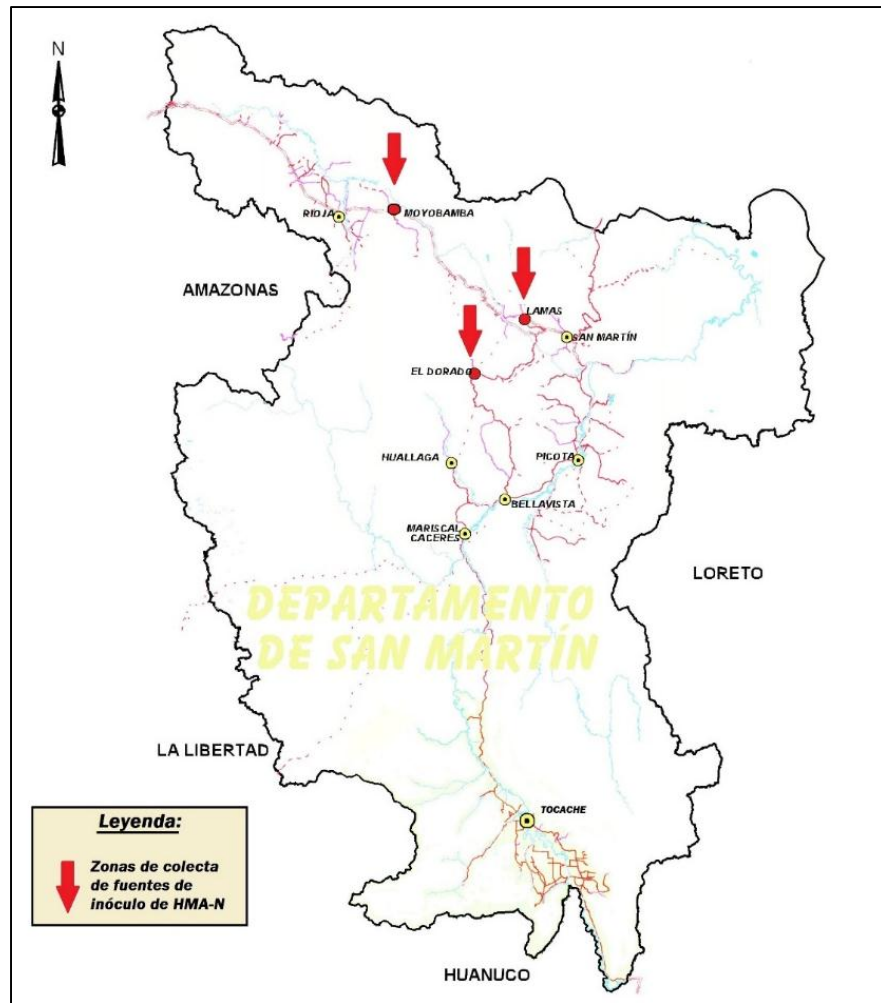


Figura 1: Mapa de las provincias del departamento de San Martín en las que se realizó el muestreo de las fuentes de inóculo de HMA-N.

4.2.2. Instalación e implementación de camas de multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares Nativos (HMA-N)

Se instalaron 9 camas de multiplicación de HMA-N utilizando arena lavada de río y las diferentes fuentes de inóculo en una proporción de 40:60 respectivamente. Cada cama de multiplicación fue construida con madera revestida con plástico y tuvo 76 cm de largo, 61 cm de ancho y 20 cm de altura. (Ver figura 2 A y B).



Figura 2: A) Preparación del sustrato. B) Sustrato homogenizado en las camas de multiplicación de HMA-N.
Del Aguila K. (2014).

4.2.3. Multiplicación de Hongos Micorrízicos Arbusculares nativos

Antes de poner en marcha el procedimiento de la multiplicación de HMA-N, se realizó un análisis biológico de las muestras traídas de campo de las provincias de Lamas, Moyobamba y El Dorado.

Dicho análisis fue realizado por la Dra. Alejandra Becerra en la ciudad de Córdoba – Argentina en colaboración al proyecto marco de Biorestauración de suelos con HMA-N en fincas con cafés arábigos en la Amazonía Peruana. Las muestras constituyeron fuentes de inóculo de las tres provincias en estudio (Lamas, Moyobamba y El Dorado). Las esporas de HMA-N fueron identificadas de acuerdo al muestreo realizado, de esta manera al conjunto de esporas por cada tratamiento determinó el consorcio de HMA-N perteneciente a cada zona agroecológica.

En cuanto al procedimiento de multiplicación de los HMA-N, se utilizó maíz (*Zea mays* L.) como planta trampa (Fig. 3-A). En cada cama de multiplicación de HMA-N, se aplicó 10 g de urea, 10 g de súper fosfato y

10 g de cloruro de potasio por metro cuadrado, el cual se homogenizó con el sustrato existente de cada cama de multiplicación, para luego sembrar el cultivo trampa. El maíz se sembró a chorro continuo, a una distancia de 20 cm entre surcos. Treinta días después de la siembra, se aplicó 40 g de urea por metro cuadrado (Fig. 3-B), esta labor se repitió a los 45 días. Para inducir estrés hídrico y en consecuencia estimular la multiplicación de esporas de HMA-N, se suspendió el riego a los 60 días y por un periodo de 20 días. Finalmente se realizó el corte de las plantas de maíz al ras del suelo (“Los Biofertilizantes”, s.f.e. [En línea]).

Para verificar la eficiente multiplicación de los HMA-N, se realizó el conteo de esporas de cada cama de multiplicación mediante la metodología del tamizado y decantación.

4.2.4. Cuantificación de esporas de HMA

La cuantificación de esporas se realizó según el método de tamizado húmedo y decantación (Gerdemann y Nicolson, 1963), seguido por una centrifugación en una concentración de sacarosa al 45% (Sieverding, 1984). Para ello se pesó 10g de suelo previamente homogenizado y colocado en una probeta conteniendo un litro de agua. Se agitó de 5 veces manualmente, luego se dejó en reposo por 20 segundos para la precipitación partículas mayores. El sobrenadante se pasó por tamices con aberturas de 250 y 38 micras, el material colectado en el tamiz de 38 micras fue transferido a un tubo Falcon de centrífuga con la ayuda de una piseta. Posteriormente se enrazó con sacarosa al 45% hasta completar

un volumen final de 50 ml. Estos tubos fueron centrifugados a 2000 rpm durante 2 minutos, para precipitar partículas de suelo y suspender las esporas; el sobrenadante fue retirado cuidadosamente y colocado en un tamiz de 38 micras para proceder a lavar con agua corriente y eliminar la sacarosa, dejando solamente las esporas. La muestra (esporas) fueron colocadas en tubos falcon y enrazadas con agua hasta completar a 15 ml. Cada muestra procesada por la técnica anterior se depositó en una placa Petri rayada en cuadrículas (1cm²) para realizar y facilitar la cuantificación de esporas. La cuantificación de esporas se realizó en un estéreo-microscopio con un aumento de 10X.5X. Por cada muestra se realizaron tres conteos, para obtener un estimativo del número total de esporas.

De esta manera, luego del periodo de multiplicación, el sustrato de cada cama se utilizó como el inóculo.

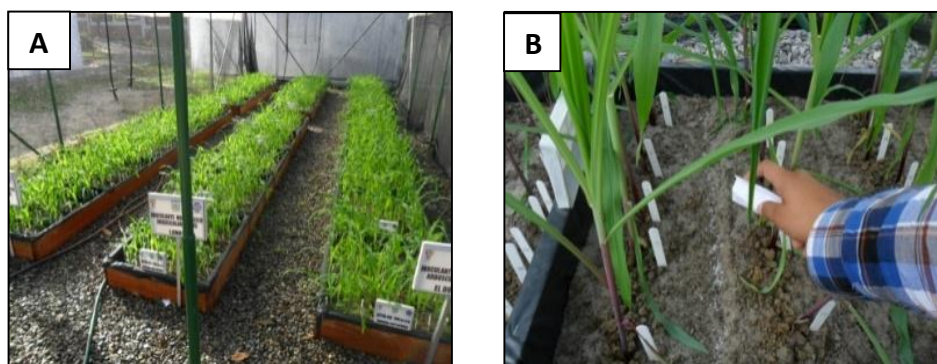


Figura 3: A) Cultivo trampa (maíz), para la multiplicación de HMA-N. B) Fertilización. **Del Aguila K. (2014).**

4.2.5. Colecta de granos de cafeto en campo

Se hizo la colecta de granos de café en campo, en el distrito de Aviación, provincia de Lamas, en la finca cafetalera del señor Wilber Sangama Tapullima, en donde había frutos maduros de plantas de café (*Coffea arabica*), de la variedad Caturra. Así mismo, los granos fueron despulpados manualmente, lavados con agua corriente y puestos a secar bajo sombra (Fig. 4-A, B y C).

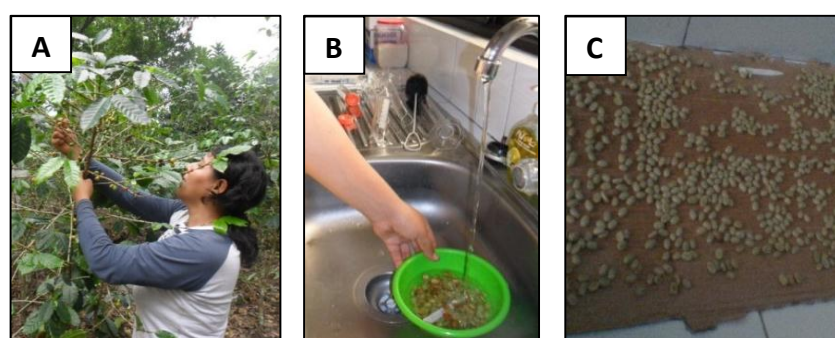


Figura 4: A) Cosecha de granos. B) Despulpado manual. C) Secado de granos de cafeto. **Del Aguila K. (2014).**

Cuadro 2: Ubicación del lugar de colecta de las semillas de cafeto.

Provincia	Localidad	Variedad	Coordenadas		Altitud
			X	Y	
Lamas	Aviación	Caturra	335434	9296186	1101

Fuente: Proyecto Biorestauración de suelos con HMA-N en fincas cafetaleras con cafés arábigos (*Coffea arabica* L.) En la Amazonía Peruana. 2014.

4.2.6. Siembra de semillas de cafeto

Se construyeron dos camas almacigueras de madera con las siguientes dimensiones: 1,2 m de largo, 1 m de ancho y 15 cm de espesor (Fig. 5-A). En cada una se colocó arena lavada de río, previamente cernida. Así

mismo se esterilizó el contenido de cada cama almaciguera con agua hirviendo, a razón de 10 L/m² (Fig. 5-B).



Figura 5: A) Cama almaciguera para semillas de cafeto. B) Esterilización con agua hirviendo. **Del Aguila K. (2014).**

Las semillas de cafeto se sembraron en las camas almacigueras con distanciamiento de un centímetro entre semillas que luego se cubrieron con una capa de arena equivalente a 2 cm de espesor y se remojaron con suficiente agua.

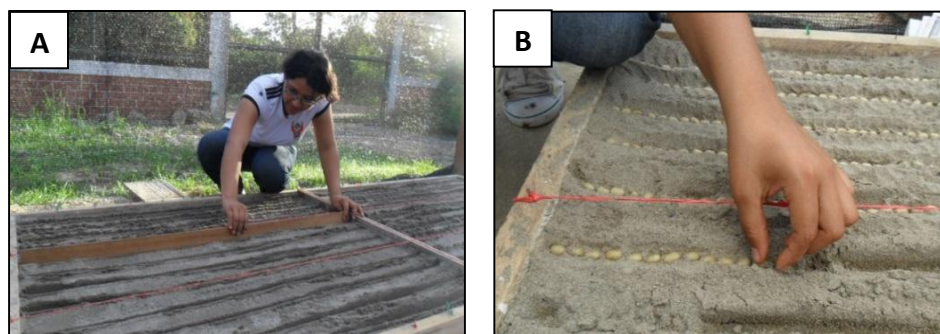


Figura 6: A) Planta de café. B) Siembra de semillas de cafeto (*Coffea arabica* L.). **Del Aguila K. (2014).**

4.2.7. Sustrato de vivero y solarización

Se colectó aproximadamente 500 kg de tierra negra, (camino al centro poblado de Aucaloma, distrito de San Roque de Cumbaza de la provincia de Lamas), la cual fue tamizada para eliminar raíces, ramas, hojas secas

o cualquier otro material que fue considerado como fuente de inóculo de ciertos microorganismos patógenos. Esta labor se realizó con la ayuda de una zaranda manual de 0,5 cm x 0,5 cm (Fig. 7).



Figura 7: A) Colecta de tierra negra. B) Tamizado de tierra negra. **Del Aguila K. (2014).**

Después de zarandear la tierra negra, ésta fue colocada sobre calaminas, y se procedió a remojarla hasta su capacidad de campo, manteniéndola así durante seis días, para activar los ciclos de vida de ciertos patógenos y nematodos, así como de las semillas de malezas, los que al ser sometidos a variaciones de temperatura y a la emisión de ciertos gases propiciados por la solarización durante 35 días, conducen a la muerte de estas formas de vida (Díez-Rojo, 2006) (Fig. 8).



Figura 8: A) Tierra negra. B) Riego hasta la capacidad de campo. C) Cierre hermético de la tierra negra. **Del Aguila K. (2014).**

4.2.8. Preparación del sustrato para las plantas de cafeto

El sustrato fue preparado con la mezcla de tierra negra y arena lavada de río (proporción 2:1), hasta obtener una mezcla homogénea, luego se llenaron las bolsas almacigueras de 3 kg que finalmente se remojaron hasta capacidad de campo. (Fig. 9).



Figura 9: A, B y C: Proceso de preparación del sustrato y llenado de bolsas almacigueras. **Del Aguila K. (2014).**

4.2.9. Colecta de inóculos micorrízicos de HMA-N

Para la colecta de inóculos de las camas de multiplicación, primero se homogenizó el sustrato y luego se colectó en bolsas plásticas con cierre hermético debidamente codificadas. Todas las muestras fueron llevadas al laboratorio para pesarlas.

En total se colectaron nueve muestras, correspondientes a nueve inóculos distintos, constituyéndose de esta manera los tratamientos de evaluación (Fig. 10).

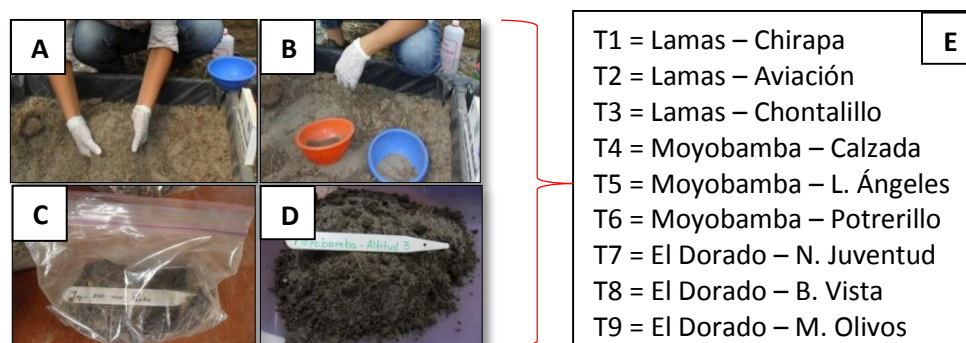


Figura 10: A, B, C y D: Proceso de obtención del inóculo de HMA-N Nativos. E) Tratamientos. **Del Aguila K. (2014).**

El número de esporas inoculadas fue constante para todos los tratamientos: 1500 esporas/planta. El ensayo constituyó de 9 tratamientos con inóculos y un tratamiento sin inóculo (Tratamiento testigo).

4.2.10. Inoculación de HMA-N a plántones de cafeto

Tanto el repique como la inoculación con HMA-N fueron realizados simultáneamente para reducir el estrés de las plántulas y poner en contacto directo el inóculo con las raíces. Para ello, las plántulas de cafeto de las camas germinadoras fueron extraídas cuidadosamente y repicadas en cada bolsa almaciguera. (Fig. 11); todas las bolsas repicadas fueron etiquetadas y codificadas, para realizar las evaluaciones posteriores.



Figura 11: A, B y C: Proceso de repique e inoculación de esporas de HMA-N. **Del Aguila K. (2014).**

4.2.11. Determinación del porcentaje de colonización micorrízica

A. Tinción de raíces

Se realizó en raíces jóvenes (secundarias y terciarias) de cafeto, siguiendo la técnica descrita por Phillips y Hayman (1970), y modificada por Kormanik *et al.*, (1978), también conocido como método de tinción de raíces.

El procedimiento de tinción fue el siguiente:

- Las raíces se colocaron en tubos de ensayo de 50 ml, dentro de una solución de hidróxido de potasio (KOH) al 10% de concentración en peso/volumen, hasta cubrir la muestra, durante 24 horas.
- Después las raíces se colocaron en baño María a 90°C durante 30 minutos, con la finalidad de remover el contenido citoplasmático y clarificar el tejido cortical.
- Luego se lavaron tres veces con agua corriente. Posteriormente dejamos las raíces en agua oxigenada durante 90 minutos a temperatura ambiente, para así aclarar los pigmentos de la raíz.
- Posteriormente se lavó tres veces con vinagre (4,5%), para acidificar las muestras y prepararlas para la tinción. Luego se dejaron las raíces en reposo hasta eliminar todo el contenido líquido.
- Finalmente, las raíces se sumergieron en tinta azul de trypano al 0,25% en concentración peso/volumen y colocadas en baño María a 90°C durante 60 minutos, luego se lavaron dos o tres

veces más con una mezcla de agua y vinagre al 50%, para eliminar el exceso del tinte.

B. Estimación del grado de colonización micorrízica

La determinación del grado de colonización micorrízica fue calculado utilizando la metodología de Trouvelot, *et al.*, (1986), también citado en Covacevich, *et al.*, (2001). Para ello cada muestra conformó 30 fragmentos de raíz teñida de un centímetro, colocadas verticalmente en paralelo una a continuación de otra sobre una lámina portaobjetos y montadas con una gota de lactoglicerol. Luego de cubrir las raíces con láminas cubreobjetos, éstas se observaron a un aumento de 10X.40X. A cada segmento de raíz se le asignó un porcentaje correspondiente a la colonización micorrízica de acuerdo a las siguientes categorías (Figura 12):

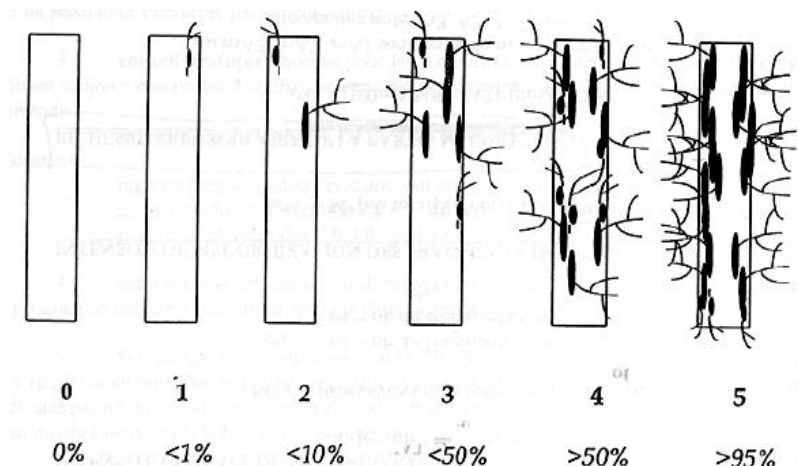


Figura 12: Niveles de colonización (0-5) según el grado de colonización del hongo micorrízico arbuscular, método de Trouvelot, *et al.*, 1986.

Finalmente, para el cálculo de la intensidad de la colonización en el sistema radicular se utilizó la siguiente fórmula:

$$(95n_5 + 70n_4 + 30n_3 + 5n_2 + n_1) / \text{Total de raíces montadas}$$

Dónde: n_5 = número de fragmentos clasificados como 5; n_4 = número de fragmentos clasificados como 4; n_3 = número de fragmentos clasificados 3, n_2 = número de fragmentos clasificados como 2 y n_1 = número de fragmentos clasificados como 1.

4.2.12. Determinación de la longitud de micelio extraradical (MER)

A. Tinción de micelio extraradical

Se realizó utilizando la técnica del gel semisólido y cuantificación por el método de intersección de cuadrantes (Robles 2009), de acuerdo con el siguiente procedimiento:

- Se pesó una muestra de 1g de suelo previamente secado bajo sombra y luego se colocó en un vaso precipitado de 250 ml.
- Se agregó una pequeña cantidad de vinagre (4,5%) por 10 minutos, para dispersar los agregados del suelo y acidificar los segmentos de micelios.
- Luego se añadieron 20 ml de solución de tinta “Pelikan” al 10% disuelto en ácido acético, seguidamente, se dejó reposar a temperatura de ambiente por 30 minutos.
- Se enrazó a 100ml con agua destilada.

- Luego se colocó la muestra en baño maría (90°C), por un periodo de 90 minutos, y durante este periodo se agitó la muestra constantemente.
- Para eliminar las fracciones más finas del suelo la mezcla resultante se pasó por un tamiz con luz de malla de 38 μm , el material retenido en el tamiz fue depositado nuevamente en el mismo vaso precipitado con una cantidad de 30 ml de agua destilada.
- Se calentó esta muestra en baño maría (90°C) por 1 minuto y posteriormente se enrazó a 100ml (Agregando 70ml de agar-agar al 0,64% en concentración peso volumen), esta solución se dejó reposar por aproximadamente 5 minutos más en baño maría (90°C). De esta manera la concentración final de esta solución fue de 0,45%.
- En el baño maría se mezcló la muestra hasta homogenizar la suspensión y se tomó 10ml con una jeringa para distribuirlos homogéneamente en una placa Petri.
- Se dejó enfriar la muestra hasta la formación de un gel semisólido, en la que se observó en el Estereomicroscopio a 10X.5X de aumento, colocando en la base de la placa una rejilla cuadrículada de 0,5 cm^2 , para poder realizar la cuantificación de las hifas.

B. Estimación de la longitud de micelio extraradical

Las muestras que previamente fueron preparadas siguiendo la metodología de tinción de micelio extraradical, fueron llevadas a un microscopio estereoscópico de 10X.5X, en la cual se contaron las intersecciones hifa-línea. La cantidad numérica obtenida se transformó a longitud de micelio por unidad de peso de suelo utilizando la fórmula de Newman (1966).

$$R = \frac{\pi AN}{2H}$$

R= Longitud de micelio por unidad de peso de suelo

A= Área de la placa

N= Número de intersecciones

H= Longitud total de las líneas de la placa (en cm).

4.3. Diseño estadístico

Se utilizó el diseño completamente al azar (DCA), con 9 tratamientos y un tratamiento testigo, con nivel de significancia de $\alpha = 0,05$, probabilidad de error para determinar la naturaleza de las diferencias entre tratamientos (Padrón, 1996); previo se sometieron los datos originales al supuesto de normalidad para lo cual se utilizó la dócima de Shapiro Wilk (Diz, 2008), y para el supuesto de homogeneidad de varianzas se utilizó la dócima de Levene (Font, 2007). Los datos de biomasa seca fueron transformados a la $\sqrt{x+1}$ por provenir de mediciones de masa (Padrón, 1996); mientras que para los datos de la variable porcentaje de colonización se utilizó la transformación de Bliss o transformación angular $\arcsen \sqrt{x\%}$ (Box y Hunter, 1989).

Cada tratamiento estuvo constituido por 18 unidades experimentales que fueron los plántones de cafeto de la Variedad Caturra, es decir 180 unidades experimentales en total. Con los datos obtenidos se realizó el análisis de variancia y para la comparación de las medias se utilizó la prueba de Tukey con nivel de significancia $\alpha = 0,05$. Los datos fueron analizados utilizando el Sistema de Análisis Estadístico (SPSS) versión 20.

Cuadro 3: Descripción de tratamientos según zonas de muestreo. 2014.

N° Tratamiento	Descripción	Altitud (m.s.n.m.m.)
T0	Testigo – Sin HMA	-
T1	Lamas - Chirapa - Con HMA	800 – 1000
T2	Lamas - Aviación - Con HMA	1000 – 1200
T3	Lamas - Chontalillo - Con HMA	1200 – 1400
T4	Moyobamba - Calzada - Con HMA	800 – 1000
T5	Moyobamba - Los Ángeles - Con HMA	1000 – 1200
T6	Moyobamba - Potrerillo - Con HMA	1200 – 1400
T7	El Dorado - Nueva Juventud - Con HMA	800 – 1000
T8	El Dorado - Buena Vista - Con HMA	1000 – 1200
T9	El Dorado - Monte de los Olivos - Con HMA	1200 – 1400

Fuente: Elaboración propia.

4.4. Variables evaluadas

A. Altura de planta

La medición de la altura de planta se realizó desde la base del tallo hasta el ápice de la planta. Se utilizó una regla milimetrada de 30 cm. Se tuvo en cuenta la desinfección de los materiales con alcohol de 96°, para evitar la contaminación entre tratamientos (Ver figura 13-A).

B. Biomasa seca de la parte aérea y radicular.

Para esta evaluación fueron seleccionadas cuatro plantas aleatoriamente por cada tratamiento (Ver figura 13-B). Estas plantas, fueron llevadas al laboratorio para obtener las muestras de raíces y de sustrato por cada tratamiento, para ello se realizó las actividades que se describen a continuación:

Primero se limpió la parte externa de la bolsa para cortar la bolsa almaciguera y quitar todo el sustrato. Se extrajo la planta completa (Ver figura 13-C), para la determinación de biomasa, así como las muestras de raíces y sustrato para las evaluaciones de las estructuras de los hongos micorrízicos arbusculares (Ver figura 13-D).

Para la determinación de masa seca, todo el material vegetal fue llevado a la estufa por 48 horas y a 60 °C.

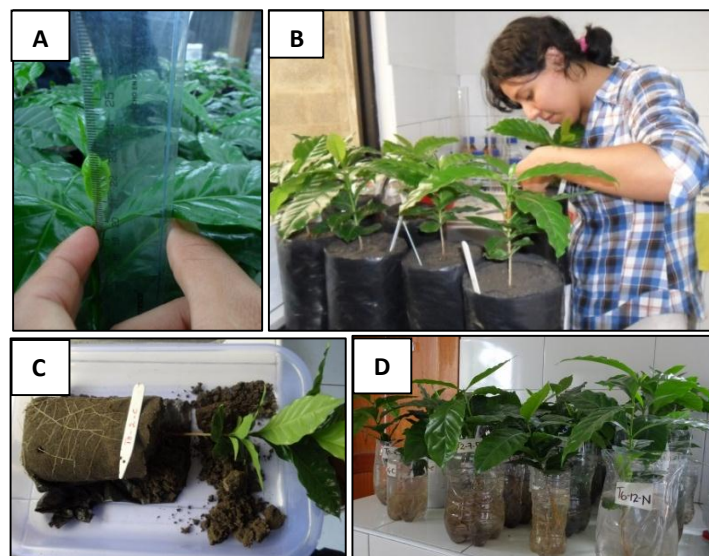


Figura 13: Plantas de cafeto (*Coffea arabica* L.). A) Altura de planta. B) Plantones de cafeto. C) Obtención del sustrato y planta completa. D) Cafetos de todos los tratamientos. **Del Aguila K. (2015).**

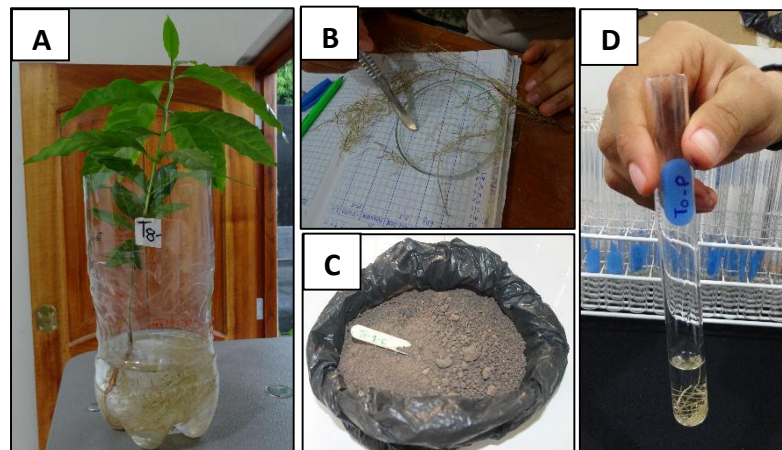


Figura 14: Obtención de muestras biológicas de café. A) Planta de café. B) Raíces de café. C) Sustrato. D) Conservación de raíces en alcohol al 50%. **Del Aguila K. (2015).**



Figura 15: Plantas de café (*Coffea arabica* L.). A y B) Planta de café preparada para la medición de biomasa. C) Medición de biomasa seca en la balanza analítica. **Del Aguila K. (2015).**

C. Área Foliar

Para la determinación del área foliar se tomaron fotografías a las hojas de las plantas de café (Ver figura 16). El cálculo se hizo mediante el uso del software ASSES, que puede calcular el área foliar usando colores de contraste y mediante la calibración de un objeto cuya área es conocida.



Figura 16: Hojas de cafeto (*Coffea arabica* L.). Del Aguila K. (2015).

D. Longitud de Micelio Extraradical (MER)

Se realizó utilizando la técnica del gel semisólido y cuantificación por el método de intersección de cuadrantes, utilizando las muestras obtenidas de las plantas sacrificadas por cada tratamiento.



Figura 17: Determinación de la longitud de micelio extraradical. Del Aguila K. (2015).

E. Porcentaje de colonización de los HMA-N

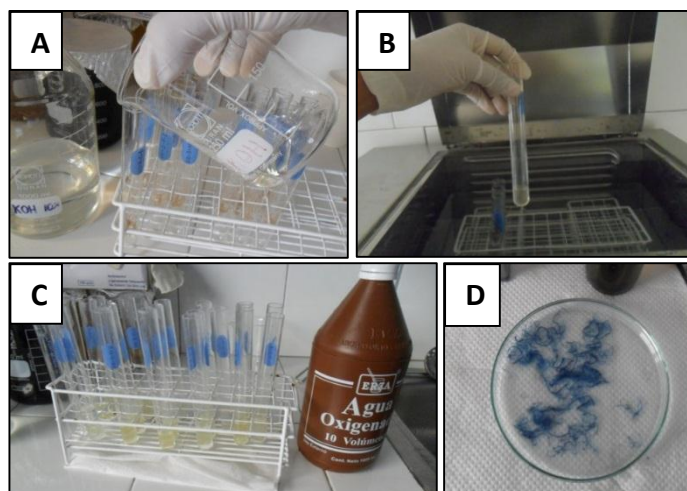


Figura 18: Procedimiento de tinción de raíces de cafeto. A) Muestras de raíces en KOH al 10%. B) Muestras de raíces en baño María. C) Intercambio de KOH con H₂O₂. D) Raíces teñidas con Azul de Tripiano. **Del Aguila K. (2015).**

F. Análisis Físico químico de sustrato utilizado en vivero

Cuadro 4. Análisis de sustrato utilizado en vivero.

ANÁLISIS DE SUELO: CARACTERIZACIÓN (Parte 1 de 2)										
Muestra de Vivero	pH (1:1)	C.E. (1:1) dS/m	CaCO ₃ %	M.O. %	P ppm	K ppm	Análisis mecánico			Clase Textural
							Arena	Limo	Arcilla	
							%	%	%	
M-01	5,31	0,27	0,5	2,38	3,9	114	75	11	14	Fr. A.

ANÁLISIS DE SUELO: CARACTERIZACIÓN (Parte 2 de 2)								
CIC	Cationes Cambiables					Suma de Cationes	Suma de Bases	% Sat. De Bases
	Ca+2	Mg+2	K+	Na+	Al+3 + H+			
	meq/100g							
11,2	3,94	0,5	0,26	0,09	0,2	4,99	4,79	43

Fr. A. = Franco Arenoso

Fuente: Universidad Nacional Agraria de La Molina. Agosto-2014.

G. Especies identificadas de HMA-N

Cuadro 5. Especies de HMA-N según las Fuentes de Inóculo.

Fuentes de Inóculo	Especies de HMA identificadas		
Lamas - Chirapa	<i>Glomus brohultii</i>	<i>Glomus</i> sp. **	<i>Acaulospora excavata</i>
	<i>Glomus fuegianum</i>	<i>Funneliformis geosporum</i>	<i>Acaulospora scrobiculata</i>
	<i>Rhizophagus intraradices</i>		<i>Acaulospora tuberculata</i>
Lamas - Aviación	<i>Glomus brohultii</i>	<i>Glomus</i> sp. **	<i>Sclerocystis</i> sp.
	<i>Glomus fuegianum</i>	<i>Funneliformis geosporum</i>	<i>Funneliformis mosseae</i>
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Scutellospora</i> sp.
Lamas - Chontalillo	<i>Glomus brohultii</i>	<i>Glomus</i> sp. **	<i>Acaulospora scrobiculata</i>
	<i>Glomus fuegianum</i>	<i>Funneliformis geosporum</i>	<i>Acaulospora mellea</i>
			<i>Acaulospora</i> sp.
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	<i>Claroideoglomus etunicatum</i>	<i>Funneliformis mosseae</i>
Moyobamba - Calzada	<i>Glomus brohultii</i>	<i>Funneliformis geosporum</i>	<i>Acaulospora excavata</i>
	<i>Glomus fuegianum</i>		<i>Acaulospora mellea</i>
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Sclerocystis</i> sp.
Moyobamba - Los Ángeles	<i>Glomus brohultii</i>	<i>Funneliformis geosporum</i>	<i>Acaulospora excavata</i>
	<i>Glomus fuegianum</i>		<i>Acaulospora mellea</i>
	<i>Rhizophagus intraradices</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Sclerocystis</i> sp.
Moyobamba - Potrerillo	<i>Glomus brohultii</i>	<i>Funneliformis geosporum</i>	<i>Funneliformis mosseae</i>
	<i>Glomus fuegianum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Acaulospora mellea</i>
El Dorado - Nueva Juventud	<i>Glomus brohultii</i>	<i>Funneliformis geosporum</i>	<i>Acaulospora excavata</i>
	<i>Glomus fuegianum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Acaulospora laevis</i>
	<i>Glomus</i> sp. *	<i>Acaulospora scrobiculata</i>	<i>Sclerocystis</i> sp.
El Dorado - Buena Vista	<i>Glomus brohultii</i>	<i>Funneliformis geosporum</i>	<i>Acaulospora excavata</i>
	<i>Rhizophagus fasciculatum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Acaulospora mellea</i>
	<i>Rhizophagus intraradices</i>		
El Dorado - M. Olivos	<i>Glomus brohultii</i>	<i>Funneliformis geosporum</i>	<i>Funneliformis mosseae</i>
	<i>Rhizophagus fasciculatum</i>	<i>Claroideoglomus claroideum</i>	<i>Acaulospora denticulata</i>
	<i>Rhizophagus intraradices</i>		<i>Acaulospora mellea</i>

*, ** (Esporas del género *Glomus* de las cuales no se identificó la especie).

Fuente: Becerra A. Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Universidad Nacional de Córdoba - Argentina (IMBIV-CONICET-UNC). 2016.

A continuación, se muestran algunas fotografías pertenecientes a las especies identificadas por la Dra. Alejandra Becerra, investigadora adjunta del Instituto Multidisciplinario de Biología Vegetal – Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas de la Universidad Nacional de Córdoba - Argentina (IMBIV-CONICET-UNC).

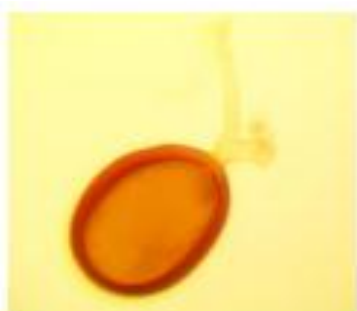


Figura 19:
Glomus brohultii

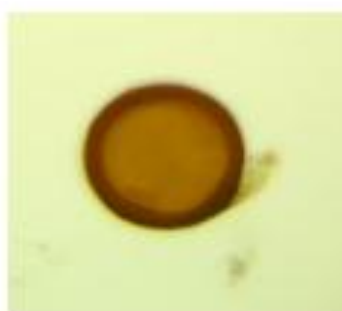


Figura 20:
Glomus fuegianum



Figura 21:
Claroideoglomus claroideum



Figura 22:
Rhizophagus fasciculatus

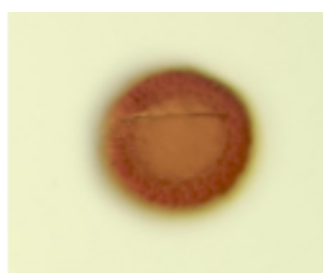


Figura 23:
*Glomus sp. **



Figura 24:
Acaulospora sp.

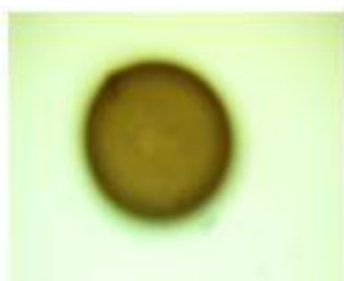


Figura 25:
Acaulospora denticulata



Figura 26:
Acaulospora laevis



Figura 27:
Acaulospora mellea

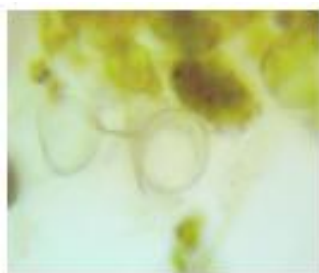


Figura 28:
Glomus sp. **

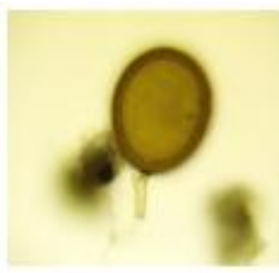


Figura 29:
Funnelformis mosseae

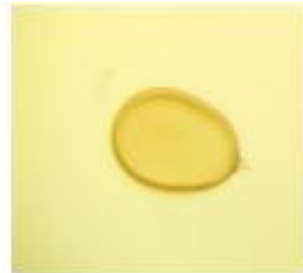


Figura 30:
Funnelformis geosporum

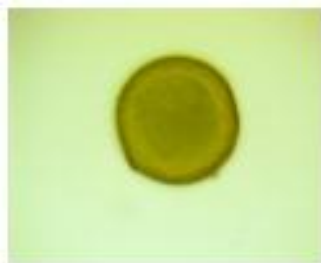


Figura 31:
Acaulospora excavata

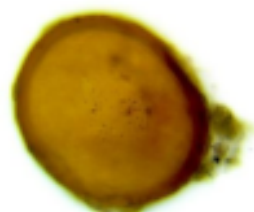


Figura 32:
Acaulospora tuberculata

En la taxonomía y extracción de esporas se emplearon los siguientes autores: INVAM (International Collection of Vesicular-Arbuscular Mycorrhizal Fungi). Disponible en http://invam.caf.wvu.edu/Myc_Info/Taxonomy/species.htm; GERDEMANN, J. W. & T. H. NICOLSON. 1963. *Spores of a mycorrhizal Endogone species extracted from the soil by wet sieving and decanting. Trans. Br. Mycol. Soc.* 46: 235-244; BLASZKOWSKI, J. <http://www.zor.zut.edu.pl/Glomeromycota/>; SCHENK, N. C. & Y. PEREZ. 1990. *Manual of identification of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi*. INVAM, University of Florida, Gainesville.

V. RESULTADOS

5.1. Multiplicación de HMA-N

Cuadro 6. Cuantificación de esporas HMA-N en diez gramos de suelo por cama de multiplicación, según la procedencia. 2014.

Provincia/Sector		Tto.	N° de esporas en 10g de suelo		Cantidad de inoculante
			Inicio	Final	gramos
Lamas	Chirapa	T1	164	779	19,3
	Aviación	T2	246	1291	11,6
	Chontalillo	T3	251	1547	9,7
Moyobamba	Calzada	T4	232	1457	10,3
	Los Ángeles	T5	115	1090	13,8
	Potrerillo	T6	208	879	17,1
El Dorado	N. Juventud	T7	216	681	22,0
	B. Vista	T8	188	587	25,6
	M. Olivos	T9	185	672	22,3

Elaboración propia.

Para este análisis se consideraron conteos de las esporas de los HMA-N, los promedios de conteo se redondearon a la unidad inmediata menor.

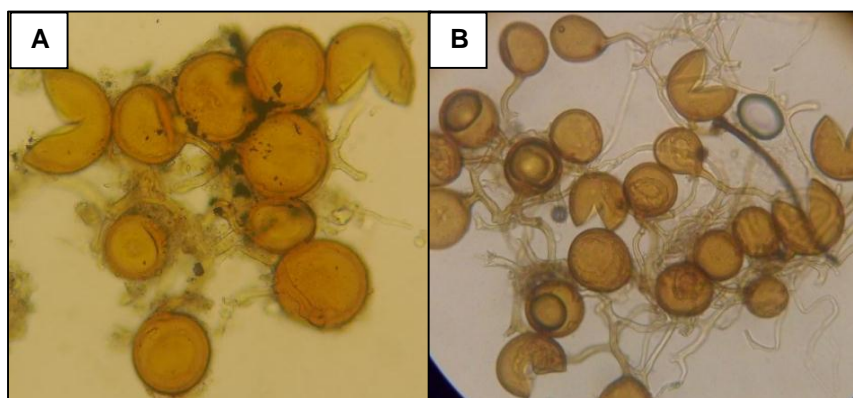


Figura 33: Esporas de HMA-N en el sustrato de las camas de multiplicación del maíz. A y B: Esporas agrupadas en forma de racimo. **Del Aguila K. (2014).**

5.2. Porcentaje de colonización hifal (%)

Cuadro 7: Análisis de varianza para el porcentaje de colonización hifal de las plantas de cafeto. Datos transformados “(ASeno X/100)”.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	F	Sig.
Tratamientos	0,223	9	0,025	106,947	<0,0001
Error	0,005	20	0,000		
Total	0,228	29			

$R^2 = 98\%$; C.V. = 6,15%

Fuente original de la tesis

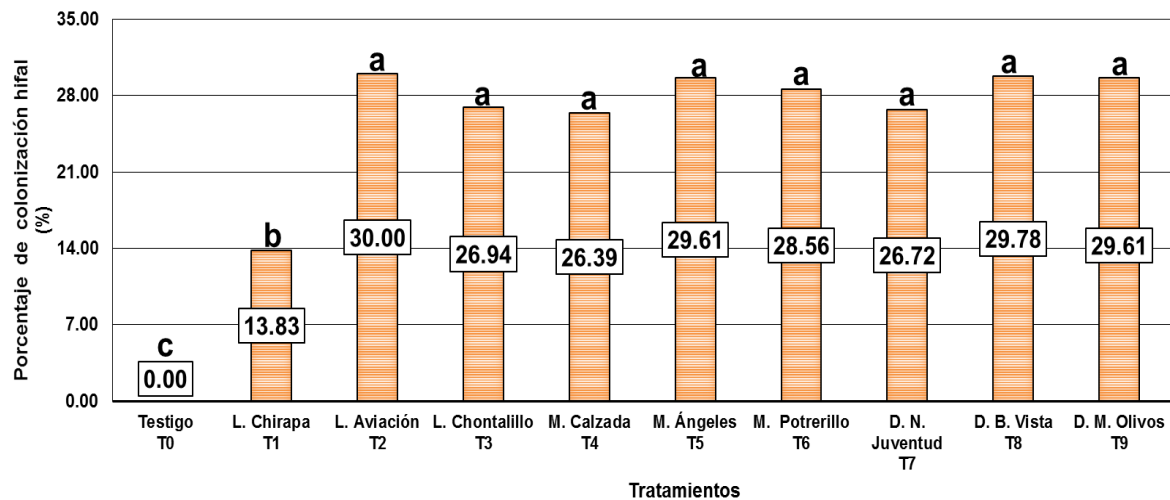


Gráfico 1: Prueba de Tukey ($P < 0,05$), para el porcentaje de colonización hifal. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

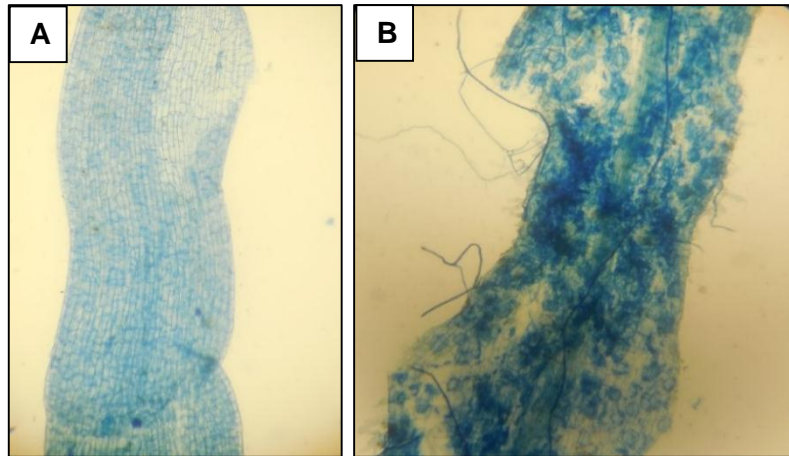


Figura 34: Comparación de raíces teñidas con azul de Tripano en raíces de cafeto. A) Raíz no colonizada con HMA-N (Tratamiento Testigo). B) Raíz colonizada por los HMA-N. **Del Aguila K. (2015).**

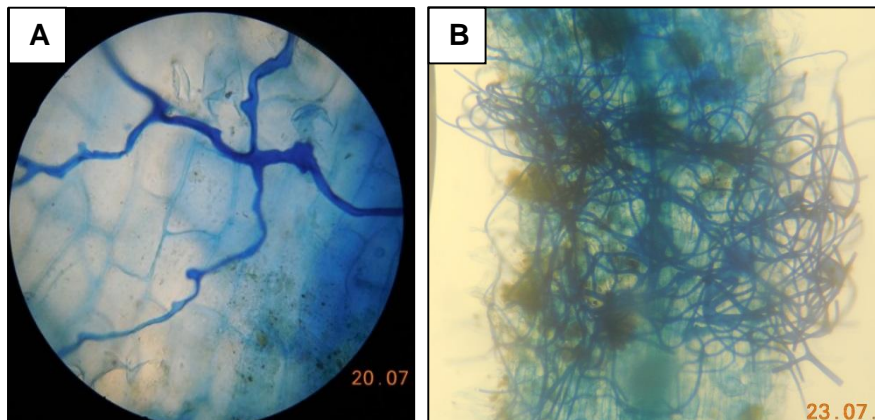


Figura 35: Comparación de micelio de HMA-N en raíces de cafeto. A) Micelio intraradical. B) Micelio extraradicular de HMA-N. **Del Aguila K. (2015).**

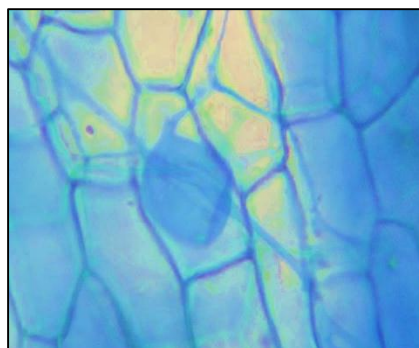


Figura 36: Vesícula de HMA-N en raíz de Cafeto. **Del Aguila K. (2015).**

5.3. Longitud de micelio extraradicular (MER) (cm)

Cuadro 8. Análisis de varianza para la longitud de micelio extraradicular de las plantas de cafeto.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	F	Sig.
Tratamientos	45021,159	9	5002,351	361,364	<0,0001
Error	276,859	20	13,843		
Total	45298,018	29			

$R^2 = 99\%$; C.V.= 4,53%

Fuente original de la tesis.

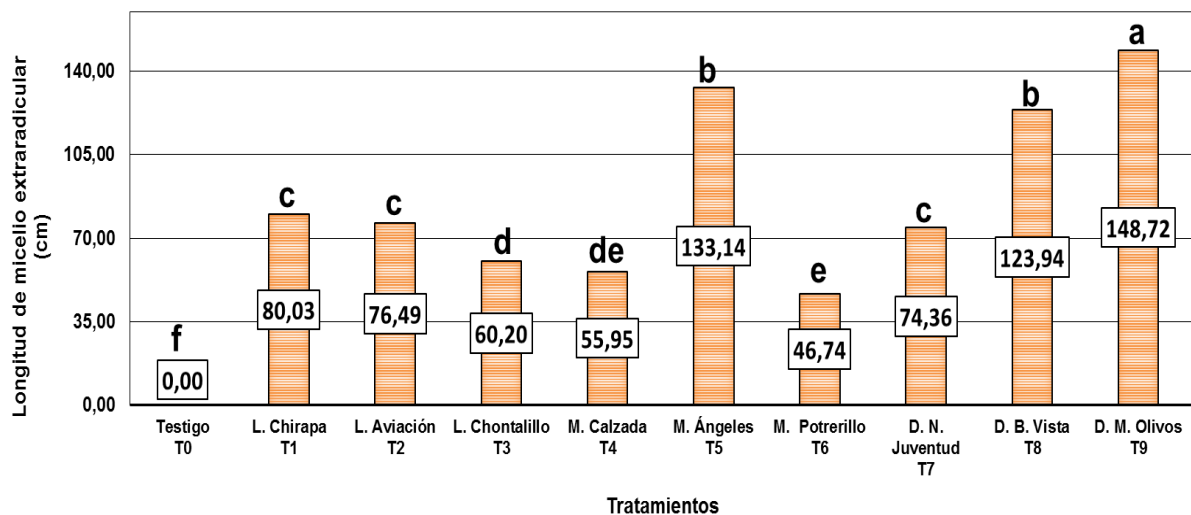


Gráfico 2: Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la longitud de micelio extraradicular. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

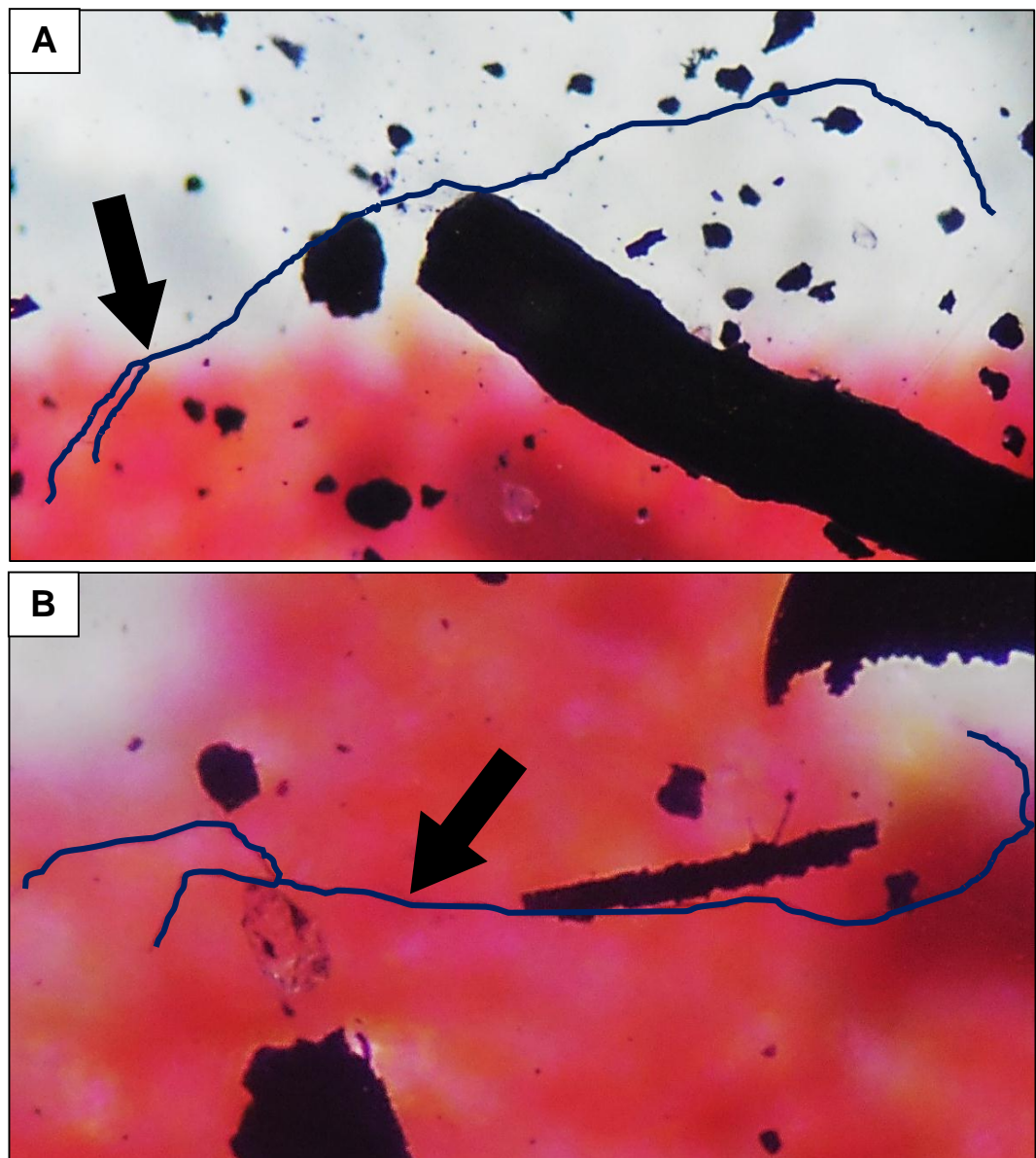


Figura 37: A y B, Micelio extraradicular de HMA-N en raíz de Cafeto. **Del Aguila K. (2015).**

5.4. Altura de planta (cm)

Cuadro 9. Análisis de varianza para la altura de las plantas de cafeto.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	F	Sig.
Tratamientos	72,881	9	8,098	48,881	<0,0001
Error	3,313	20	0,166		
Total	76,195	29			

$R^2 = 96\%$; C.V.= 2,99%

Fuente original de la tesis

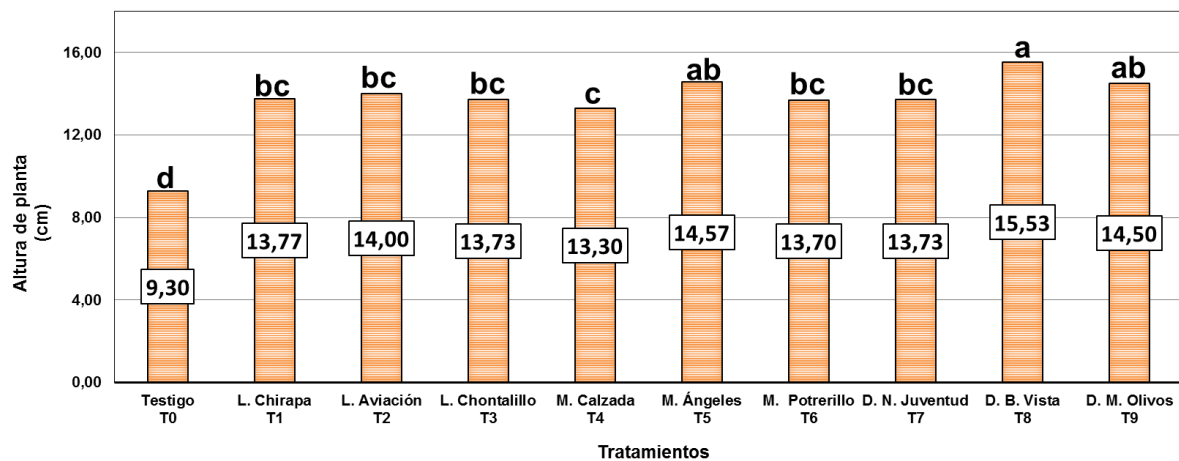


Gráfico 3: Prueba de *Tukey* ($P < 0,05$) para la altura de planta. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

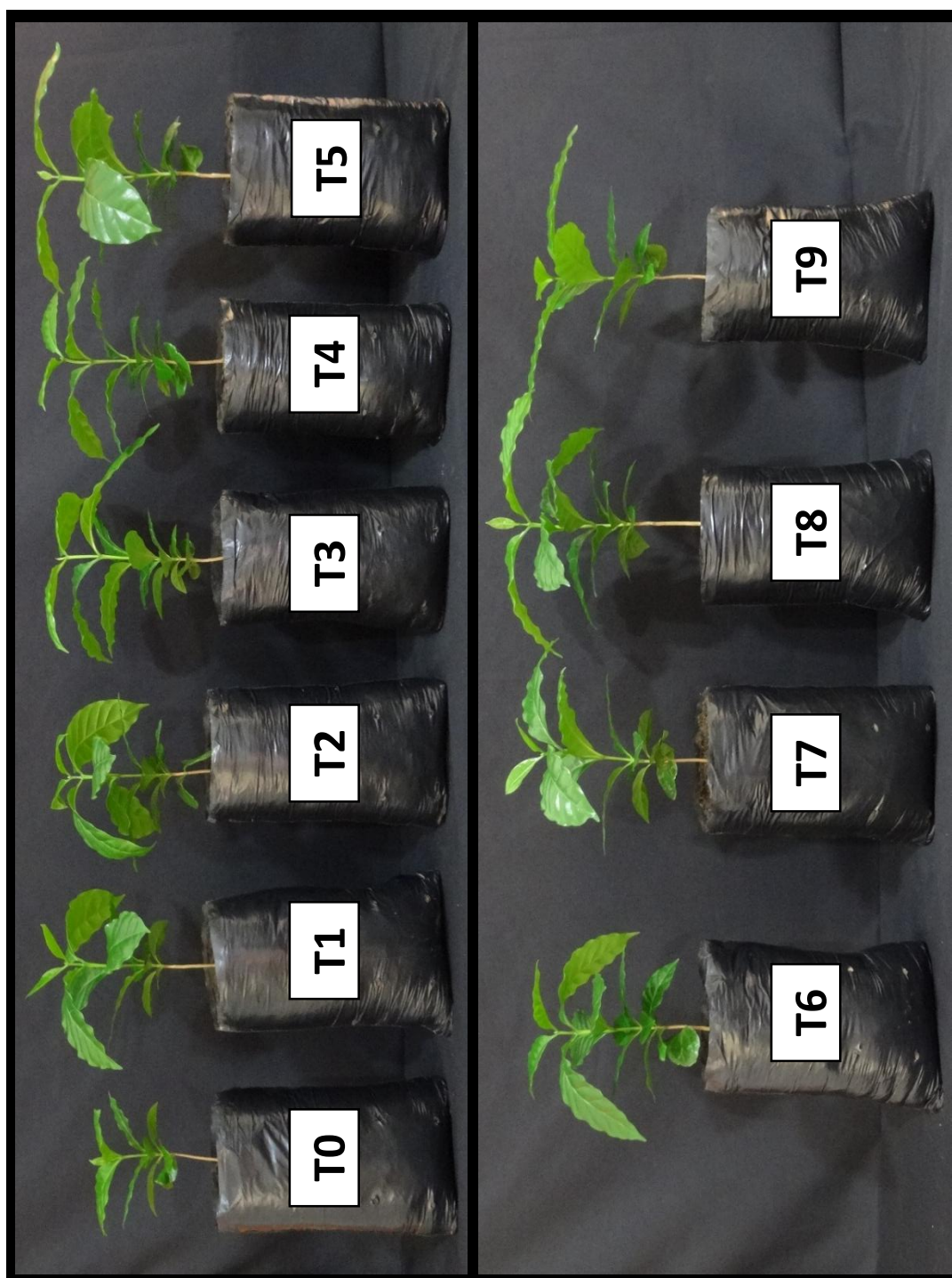


Figura 38: Plantas de Cafeto (*Coffea arabica*). Del Aguila K. (2015).

5.5. Área foliar (cm²)

Cuadro 10. Análisis de varianza para el área foliar de las plantas del cafeto.

Datos transformados “(\sqrt{X})”.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	F	Sig.
Tratamientos	195,295	9	21,699	56,547	<0,0001
Error	7,675	20	0,384		
Total	202,970	29			

$R^2 = 96\%$; C.V.= 3,66%

Fuente original de la tesis

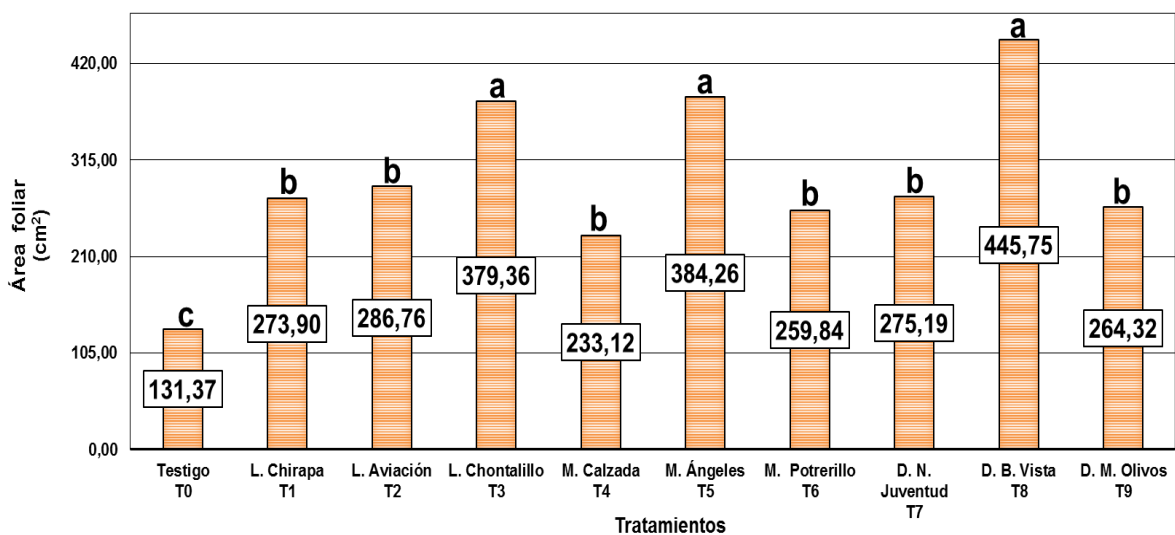


Gráfico 4: Prueba de *Tukey* ($P < 0,05$) para el área foliar. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

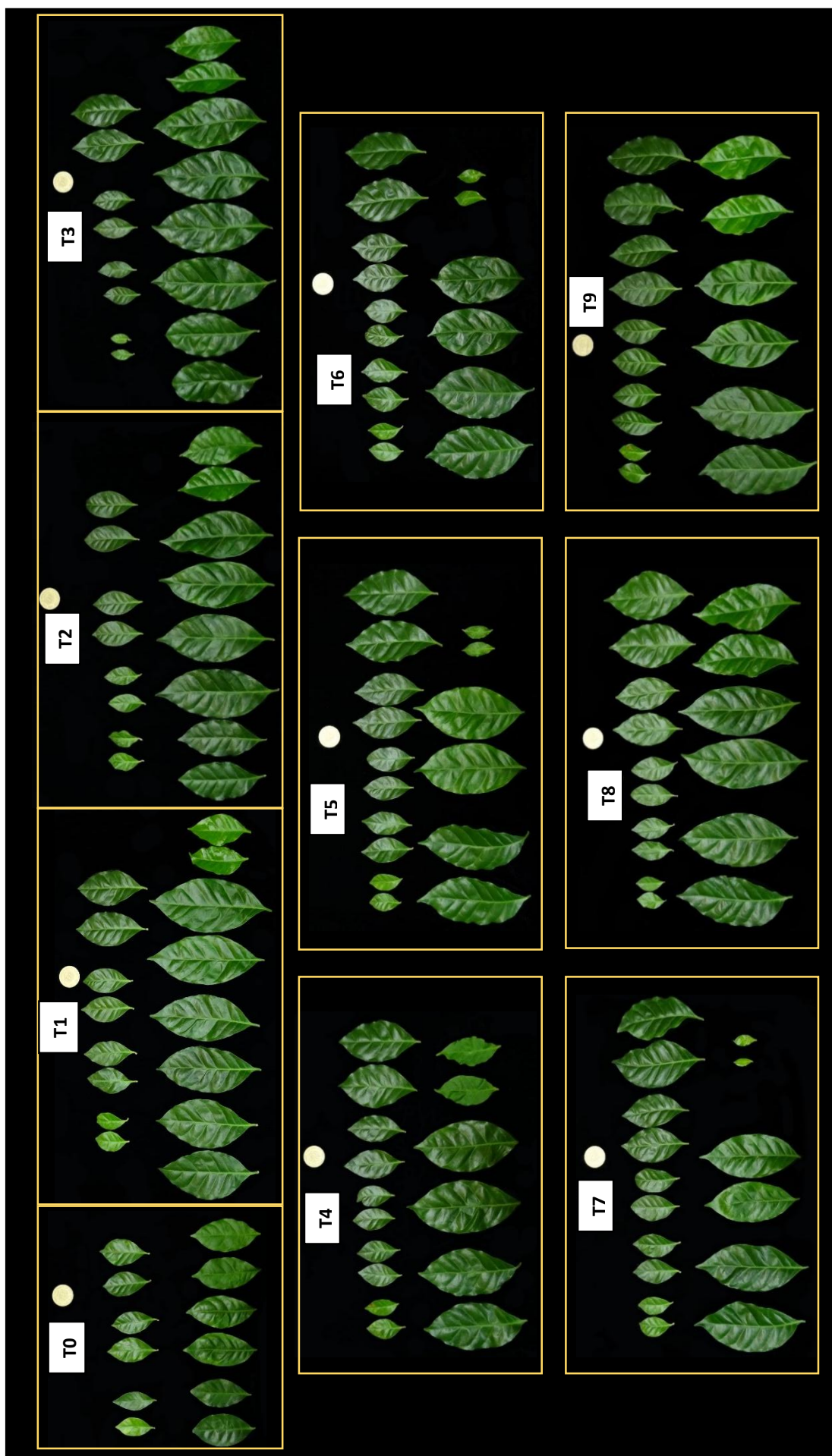


Figura 39: Hojas de plantas de Cafeto (*Coffea arabica*). Del Aguila K. (2015).

5.6. Biomasa seca aérea (g)

Cuadro 11: Análisis de varianza para la biomasa seca aérea de las plantas de cafeto. Datos transformados. " $(\sqrt{X + 1})$ ".

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	F	Sig.
Tratamientos	0,566	9	0,063	3,655	<0,008
Error	0,344	20	0,017		
Total	0,910	29			

$R^2 = 62\%$; C.V. = 7,74%

Fuente original de la tesis.

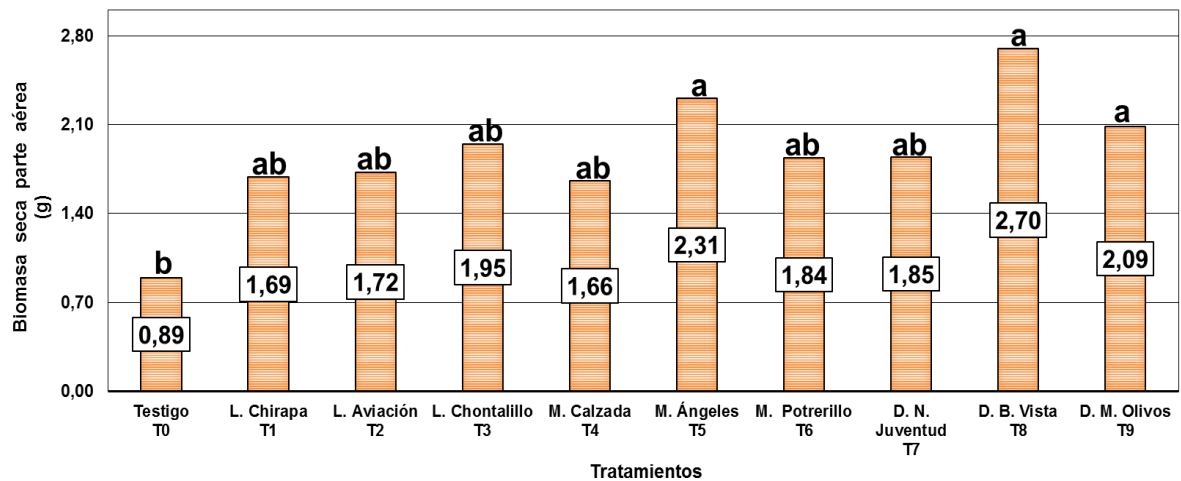


Gráfico 5: Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la biomasa seca de la parte aérea. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.

5.7. Biomasa seca radicular (g)

Cuadro 12. Análisis de varianza para la biomasa seca radicular de las plantas de cafeto. Datos transformados “ $(\sqrt{X+1})$ ”.

F.V.	S.C.	G.L.	C.M.	F	Sig.
Tratamientos	0,090	9	0,010	8,685	<0,0001
Error	0,023	20	0,001		
Total	0,113	29			

$R^2 = 79\%$ C.V. = 2,53%

Fuente original de la tesis.

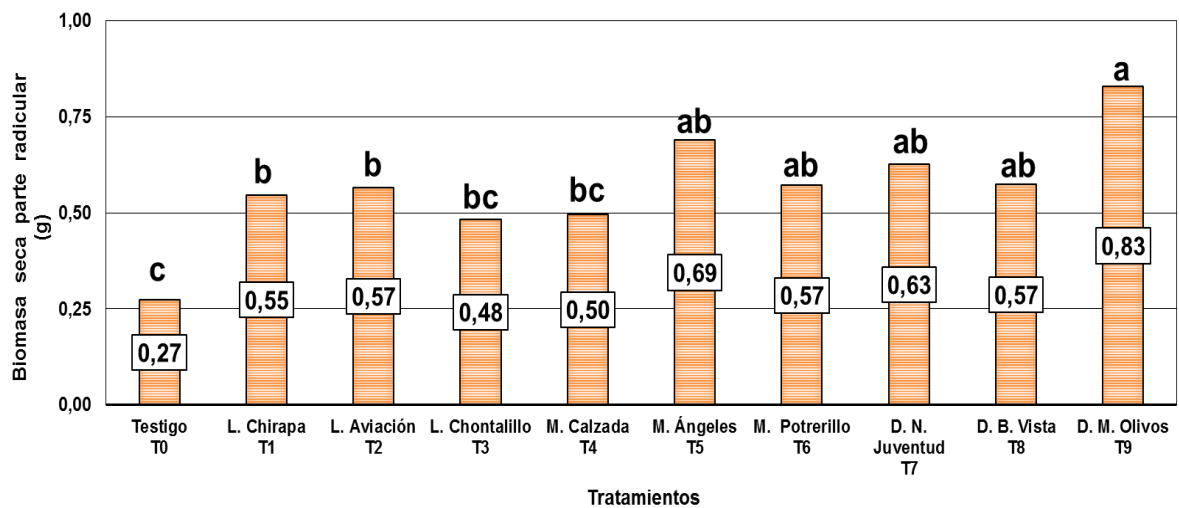


Gráfico 6: Prueba de Tukey ($P < 0,05$) para la biomasa seca radicular. Medias con letras diferentes difieren estadísticamente entre sí.



Figura 40: Plantas de Cafeto (*Coffea arabica*), para el análisis de biomasa. Del Aguila K. (2015).

5.8. Análisis de correlación de variables

Cuadro 13: Análisis de correlación lineal de Pearson entre la longitud de micelio extraradicular y las variables morfológicas evaluadas de las plantas de cafeto.

Parámetros	Longitud de micelio extraradicular (LMER)
Altura de planta	0,71
Área foliar	0,41
Biomasa seca aérea	0,49
Biomasa seca radicular	0,61

Elaboración propia.

VI. DISCUSIÓN

6.1. Multiplicación de HMA-N

Según el cuadro 5, en todos los tratamientos inoculados, se comprobó que la multiplicación de esporas de HMA-N presentes en cada fuente de inóculo, fue tres veces más en todas ellas; así mismo los diferentes resultados de cada consorcio pudo haberse debido a las especies de HMA-N presentes, al periodo de multiplicación en el cultivo trampa (80 días), a las características físico-químicas de las muestras y las condiciones del medio en el que se desarrollaron, siendo el estrés hídrico uno de los principales responsables de asegurar el éxito de esta etapa, ya que activa el mecanismo de supervivencia de dichos microorganismos, conocido como esporulación (Rivera y Fernández, 2003), razón por la cual esta etapa es tan importante para el incremento en número de esporas de HMA.

Es importante agregar que esta etapa es crucial en trabajos de inoculación con HMA-N, ya que de esta manera se promueve la adaptación y prevalencia frente a otros microorganismos no deseados, debido a que las esporas son las principales responsables de perpetuar su especie (Barea *et al.*, 1991).

En cuanto a las especies presentes en cada fuente de inóculo, de acuerdo al análisis biológico realizado por Becerra 2016, se obtuvo que, al inicio de la multiplicación, se identificaron 19 especies de HMA-N, tal y como se observa en el cuadro 6. Dichas especies estuvieron agrupadas según se encontraron en cada fuente de inóculo, sin embargo; es importante aclarar que es muy probable que durante el proceso de la multiplicación de estos microorganismos,

cada una de estas haya evolucionado de distinta forma, puesto que por ejemplo aquellas especies del orden Glomerales tales como *Glomus brohultii*, *Claroideoglossum claroideum*, *Claroideoglossum etunicatum*, *Rhizophagus intraradices* y *Funneliformis mosseae*, en comparación con las especies del orden Diversisporales como *Acaulospora denticulata*, *Acaulospora laevis*, *Acaulospora mellea* y *Acaulospora scrobiculata*, presentan una colonización más rápida por tener su ciclo de vida más corto, el mismo que, de acuerdo a la metodología utilizada para la multiplicación en esta investigación (periodo de 80 días), se pudo haber completado hasta en tres oportunidades, mientras que las segundas, por tener un ciclo de vida de 12 meses aproximadamente, sus incrementos en número de esporas pudieron haber sido poco representativos; en consecuencia la riqueza de las especies de HMA-N presentes en cada consorcio, pudo haberse visto afectada, opinión concedida por Carballar, entrevista personal 28 de marzo de 2016.

Así mismo, la abundancia de las esporas de HMA-N, tal y como se observa en el cuadro 6, se vio favorecida en todos los consorcios micorrízicos, llegando a fluctuar entre 587 y 1547 esporas/10g, resultados similares a los encontrados por Zangaro, Vergal, Bochi, Almeida, Azevedo, Berbel, Nogueira y Carrenho, (2012), quienes reportaron valores entre 400 y 800 esporas/10g de suelo.

Estos incrementos en número de esporas demuestran la gran capacidad de adaptación de dichos microorganismos, corroborado por Robles (2006).

6.2. Porcentaje de colonización hifal (%)

El análisis de varianza (cuadro 7), para la variable porcentaje de colonización micorrízica hifal, muestra que hubo una diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos en estudio.

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 98% y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 6,15%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y el porcentaje de colonización en las plantas; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

El Gráfico 1 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0,05$), para la variable porcentaje de colonización. En este gráfico se puede observar que los tratamientos T2, T8, T9, T5, T6, T3, T7 y T4, obtuvieron los mayores valores de porcentaje de colonización de HMA-N, con diferencias significativas, seguidos por el tratamiento 1. Así mismo el tratamiento testigo, al no haber sido inoculado con HMA-N, presentó el menor valor para esta variable (cero).

Los consorcios micorrízicos nativos provenientes de las nueve zonas de muestreo, fueron capaces de establecer la simbiosis conocida como micorriza con las plantas de cafeto, sin embargo, ésta variable por sí misma no precisa la eficiencia de los de los mismos, esto debido a que la colonización solo mide la capacidad de ocupar un volumen determinado de la raíz, mas no así de la efectividad. (McGonigle *et al.*, 1990).

Si bien es cierto que esta variable no expresa la eficiencia de un consorcio, es un hecho que la técnica utilizada permitió visualizar y cuantificar las estructuras de los HMA-N que se formaron de manera intraradical en las raíces del cafeto, corroborado por (Grace y Stribley, 1991), y es por ello que representa una idea de cuánto han colonizado las especies de hongo en las raíces de las plantas.

El porcentaje de colonización de las plantas inoculadas con HMA-N en los diferentes tratamientos fluctuó entre 13,83% y 30%. Escalona (2002) encontró resultados similares en café con valores de porcentaje de colonización en vivero que fluctuaron de 23,6% a 42,96% en plantas inoculadas con HMA. Así mismo Rivera *et al.*, (1997) reportó resultados entre 21% y 54% de colonización de HMA también en plantas de cafeto en la etapa de vivero.

La diferencia estadística entre los consorcios fue el tratamiento T1 (L. Chirapa), que obtuvo valores numéricos de colonización más bajos a comparación de los otros tratamientos, sin embargo, este tratamiento también tuvo características morfológicas deseables en plantas para su trasplante a campo definitivo. Esta diferencia podría ser explicada por el consorcio micorrízico inoculado en dicho tratamiento, ya que las fuentes de inóculo provinieron de localidades distintas y la presencia de diversas especies y familias de los HMA difieren considerablemente en el comportamiento de su colonización (Hart y Reader, 2002), tanto el tiempo de establecimiento de la simbiosis, así como las condiciones particulares del suelo que permitan la simbiosis.

Como el nivel de colonización que distintos hongos micorrízicos arbusculares pueden tener para un mismo hospedero son diferentes, se puede inferir que existió cierto grado de especificidad en la simbiosis (Barea, 1991).

En cuanto a las condiciones meteorológicas, las temperaturas promedio mensuales correspondientes al periodo desde la inoculación con HMA-N hasta el final del experimento (Diciembre 2014 – Marzo 2015), fluctuaron entre 27,27°C y 29,60°C, que si bien pudieron afectar positivamente en la colonización de dichos microorganismos, también estuvieron expuestos a temperaturas máximas que oscilaron desde 37,70°C a 38,20°C, las cuales pudieron ejercer un efecto negativo en este proceso ya que según Hermard (2002), estos valores se encuentran fuera del rango óptimo que varía entre 17°C y 27°C.

6.3. Longitud de micelio extraradicular (MER) (cm)

En el cuadro 8 se presenta el análisis de varianza para la variable longitud de micelio extraradicular. En dicho cuadro se observa que hubo una diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos en estudio. El coeficiente de determinación (R^2) fue de 99% y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 4,53%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y el porcentaje de colonización de las plantas; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

El Gráfico 2 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0,05$), para la variable longitud de micelio extraradicular. En este gráfico se puede observar que el tratamiento T9, obtuvo el mayor valor para esta variable, con diferencias significativas, seguido por los tratamientos T5 y T8 sin diferencias significativas entre sí. Los tratamientos T4 y T6, con diferencias significativas

entre sí, fueron los que obtuvieron los menores valores, sin embargo, aún éstos fueron mayores que el tratamiento Testigo (T0), el cual obtuvo 0 cm de micelio extraradicular, como consecuencia de no estar inoculado con HMA-N.

Así mismo se observa que la longitud de micelio extraradicular de los HMA-N tuvo diferencias significativas en comparación con el tratamiento testigo. Luego de haber ocurrido la colonización de la raíz, se desarrolla en el suelo una red de micelio que constituye la fase extraradical de la simbiosis, la principal responsable de la absorción de nutrientes minerales cedidos a la planta (Smith y Read, 2008). A diferencia de la colonización, con esta variable se ha corroborado lo mencionado por Herrera y Ferrer en 1984, que describieron que la eficiencia o efectividad de los consorcios de HMA-N es observable en su capacidad de influir favorablemente en el crecimiento y desarrollo de una especie vegetal en comparación con plantas no inoculadas. Con los resultados obtenidos se constató que el micelio externo logró difundirse y abarcar mayor espacio rizosférico, en el que funcionó como un sistema radical complementario (Bucher, 2006), logrando alcanzar hasta 148,72 cm en el tratamiento T9.

También nos podemos dar cuenta que el T1 (L. Chirapa), habiendo obtenido el menor grado de colonización, obtuvo resultados que mostraron diferencias significativas frente a los tratamientos 3, 4 y 6 (tratamientos que obtuvieron mayores grados de colonización que dicho tratamiento), lo cual explica que no necesariamente una buena colonización asegura la abundancia de longitud de micelio extraradicular, ello dependerá de la especie de HMA, (Robles, 2009).

Así mismo diversos estudios han reportado que las especies de HMA difieren en cuanto a la formación de su respectivo micelio, tanto en el tiempo de formación, en la cercanía o lejanía de las raíces como también en la forma de los mismos, lo que también dependería de las raíces del hospedante, sus necesidades de absorber nutrientes del suelo, así como de las condiciones físicas, químicas y biológicas del medio edáfico. Por lo tanto, las cepas nativas no siempre pueden establecer una simbiosis eficiente; por ello para los cultivos que inicialmente se propagan en viveros, ésta es una fase adecuada para efectuar la inoculación con cepas de HMA que sean eficientes y altamente competitivas (Rivera *et al.*, 2003).

6.4. Altura de planta (cm)

En el cuadro 9 se presenta el análisis de varianza para la variable altura de planta. En dicho cuadro se observa que hubo una diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos en estudio. El coeficiente de determinación (R^2) fue de 96% y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 2,99%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y la altura de las plantas; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

En el Gráfico 3 se presenta la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0,05$), para la variable altura de las plantas. En él se puede apreciar que el tratamiento T8 tiene la mayor altura, con diferencias significativas, seguida por los tratamientos T5 y T9 que no mostraron diferencias significativas entre ellos. Los tratamientos T2, T1, T7, T3 y T6 presentan valores de altura similares, no

estableciéndose diferencias significativas entre ellas y como era de esperarse el tratamiento testigo, es decir sin inoculación con HMA-N presentó el menor valor de altura de planta.

Los valores establecidos en el ensayo muestran que todos los tratamientos que tuvieron inóculo de HMA-N crecieron en altura más que el testigo; sin embargo, los tratamientos T8, T5 y T9 crecieron en aproximadamente 35% a 40% más que el testigo.

De acuerdo con los resultados obtenidos, todos los tratamientos inoculados fueron mejores que el tratamiento testigo. Esto pudo deberse a la simbiosis de las raíces del cultivo con los HMA-N, ya que esta especie se considera un cultivo micotrófico obligatorio (Sieverding y Barea, 1991) y con alta dependencia micorrízica (Siqueira y Franco, 1988), lo cual se ve reflejado en el crecimiento longitudinal de la planta. Así mismo, numerosas investigaciones han demostrado respuestas positivas a la inoculación, no solo en la fase de establecimiento de la plantación sino sobre el rendimiento del cafeto en las primeras cosechas (Siqueira *et al.*, 1993).

Así mismo Jiménez (1989), encontró que, en viveros de cafeto donde se inocularon varias especies de HMA, se registraron un mayor crecimiento de plantas; así por ejemplo Trejo *et al.*, (2011) encontró, en condiciones controladas de invernadero, que los consorcios micorrizicos arbusculares incrementaron la altura de plantas de cafeto en 91% con respecto a plantas no inoculadas.

Además, Siqueira *et al.*, (1995), encontraron que la inoculación con HMA de plantas de café influyen positivamente en su crecimiento en vivero y en la sobrevivencia y tolerancia al estrés al momento del trasplante.

Las diferencias estadísticas observadas en los resultados de los tratamientos inoculados con HMA-N, pudo haber sido causa de los diferentes consorcios micorrizicos utilizados, ya que determinadas especies fúngicas, e incluso cepas de una misma especie, producen efectos distintos sobre el crecimiento, ello debido a la especificidad ecológica y compatibilidad funcional entre ambos simbioses (Molina *et al.*, 1992).

Koch *et al.*, (1997), refiere que la inoculación de HMA en plantas eleva notablemente la tasa de fotosíntesis comparada con las plantas no inoculadas, y puede atribuirse el incremento en el crecimiento de las plantas micorrizadas a ese aumento de la actividad fotosintética.

El hecho de inocular los HMA a las plantas en su estado vegetativo inicial es el mejor momento para establecer la simbiosis, puesto que significa un mejor aprovechamiento de nutrientes, un ahorro en fertilizantes químicos y una manera de asegurar el mayor número de plantas vigorosas para el trasplante a campo definitivo. (Alarcón y Cerrato, 1999).

6.5. Área foliar (cm²)

En el cuadro 10 se presenta el análisis de varianza para la variable área foliar. En él se observa que hubo una diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos en estudio.

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 96% y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 3,66%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y el área foliar de las plantas; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

En el Gráfico 4 se presenta la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0,05$) para el área foliar, en relación con el área foliar (cm²), nos muestra que el tratamiento T8, T5 y T3 mostraron los mayores valores en área foliar, mostrando diferencias significativas en comparación a los otros tratamientos, seguido por los tratamientos T2, T7, T1, T9, T6 y T4 entre los cuales no hay diferencia estadística. Finalmente, el tratamiento T0, fue el que obtuvo el menor valor para esta variable.

Los resultados obtenidos en esta variable, demostraron que la inoculación con HMA-N, resultó provechosa, lográndose incrementos en el área foliar que fluctuaron entre 77,45% y 239,31% más con relación a las plantas no inoculadas. Resultados similares encontró Fernández - Martín *et al.*, (2005), en sus investigaciones realizadas en café variedad Catuaí en etapa de vivero, con incrementos entre 6% y 140% de área foliar con respecto a plantas no inoculadas

con HMA. Así mismo FENIAGRO (2010), afirma que con la aplicación de micorrizas arbusculares la producción de área foliar de café en vivero se incrementa entre 10% y 263% con respecto a los testigos.

Cabe indicar que el área foliar es un índice que expresa adecuadamente la respuesta del crecimiento de las plantas, siendo ésta la variable más comúnmente utilizada para definir el desarrollo de los plantones de cafeto (Soto, 1994; Rivera *et al.*, 1997; Valencia, 1998; Fernández, 1999).

Estos resultados son coherentes con los obtenidos en los incrementos de altura de planta, ya que la micorrización genera incrementos de las tasas fotosintéticas, potencial osmótico, conductancia estomática, reproducción y la transpiración, lo que conlleva a la obtención de plantas más vigorosas. (Smith y Read 1997; Augé 2001).

6.6. Biomasa seca aérea (g)

En el cuadro 11 se presenta el análisis de varianza para la variable biomasa seca aérea. En dicho cuadro se observa que hubo una diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos en estudio. El coeficiente de determinación (R^2) fue de 62% y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 7,74%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y la biomasa seca aérea de las plantas; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

En el Gráfico 5 se presenta la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0,05$), para la variable de biomasa seca de la parte aérea. En este gráfico se puede apreciar que los tratamientos T8, T5 y T9 tienen la mayor acumulación de la biomasa seca de la parte aérea, con diferencias significativas, seguida por los tratamientos T3, T6, T7, T2, T1 y T4, los cuales no mostraron diferencias significativas entre ellos. Así mismo el tratamiento testigo fue el que presentó el menor valor para esta variable.

Al igual que el crecimiento de la planta y el área foliar, la producción de biomasa seca es considerada como un indicador de la evidencia de los beneficios que una planta hospedadora de HMA puede obtener de la simbiosis micorrízica.

En los resultados se observaron incrementos de la biomasa seca aérea de los tratamientos inoculados con HMA-N que fluctuaron entre 86,52% y 203,37% más que las plantas no inoculadas, siendo esto, otro de los beneficios de la simbiosis con los HMA, ya que incrementos de cantidad de biomasa seca aérea, son reflejos directos de la cantidad de biomasa seca radicular, es decir, a mayor materia seca de las raíces, la planta forma más hojas. (Abbott y Robson, 1991; Sieverding, 1991; Jasper y Davy, 1993; Allen, 1995).

Ortas (1996), señala que los HMA en el cafeto, al incrementar la tasa de crecimiento vegetal influyen en la distribución de los nutrimentos a los tallos, los cuales aumentan la utilización de fotosintatos en la parte aérea y por ende su aumento de biomasa.

Si bien es cierto los incrementos de biomasa seca son altos, estos resultados no son extraños dado que autores como Smith y Read, 1997, citados por Dávila *et al.*, (2009), afirmaron que la presencia de HMA en las raíces del hospedante con respecto a los incrementos de su tasa de crecimiento y producción de biomasa, tienen efectos mayores en suelos de baja fertilidad o desequilibrados nutricionales, especialmente cuando el contenido de fósforo asimilable es bajo; características similares que se encontraron en el análisis del sustrato utilizado en el desarrollo de este estudio.

6.7. Biomasa seca radicular (g)

En el cuadro 12 se presenta el análisis de varianza para la variable biomasa seca radicular. En dicho cuadro se observa que hubo una diferencia estadística altamente significativa entre los tratamientos en estudio.

El coeficiente de determinación (R^2) fue de 79% y el coeficiente de variabilidad (C.V.) de 2,53%; demostrando que existe un alto grado de significancia entre los tratamientos estudiados y la biomasa seca de la parte radicular; estos valores se encuentran dentro del rango de aceptación para trabajos realizados en vivero, corroborado a lo expuesto por Calzada (1982).

El Gráfico 6 muestra la comparación de medias con la prueba de Tukey ($P < 0,05$), para la variable biomasa seca radicular. En este gráfico se puede observar que el tratamiento T9, obtuvo el mayor valor para esta variable, con diferencias significativas, seguido por los tratamientos T5, T7, T8 y T6 con diferencias

significativas. Así mismo los tratamientos T4 y T3 sin diferencias significativas entre sí, obtuvieron los menores valores en esta variable, pero aun así éstos fueron mayores al testigo el cual alcanzó 0,27g de biomasa seca de la parte radicular.

La eficiencia micorrízica, según señalan Barea *et al.*, (1991), se explica por el incremento del área de exploración radical de las plantas y por ende en sus consiguientes incrementos en la absorción de nutrimentos, lo cual implica que, en una misma condición de disponibilidad de éstos, se presenten mayores o menores coeficientes de aprovechamiento y crecimiento de las plantas dependiendo de los consorcios micorrízicos involucrados al momento de la inoculación. Es por ello que esta variable guarda correlación con la longitud de micelio extraradicular puesto que el sustrato utilizado para todos los tratamientos fue el mismo.

En el gráfico 6 se observan incrementos de la biomasa seca radicular de los tratamientos inoculados con HMA-N que fluctuaron entre 77,77% y 207,41% respecto a las plantas no inoculadas; diversos estudios en invernadero demuestran que la asociación simbiótica produce diversos cambios y/o modificaciones a nivel fisiológico, entre los que destacan los incrementos en la actividad fotosintética, por efecto de la mayor capacidad de fijación de CO₂ y, por ende, el incremento de las tasas de crecimiento y biomasa, que las plantas micorrizadas presentan en comparación con plantas control (Alarcón y Ferrera-Cerrato, 1996; Alarcón *et al.*, 1997; Olalde, 1997). Otros autores como Berta *et*

al., 1993; Aguíñ *et al.*, 2004), reconocen también que la presencia HMA incrementa la biomasa y volumen de la raíz.

En este estudio la inoculación con los consorcios micorrízicos nativos representó una ventaja respecto a la obtención de plantones aptos para el trasplante a campo definitivo, si bien es cierto se observan diferencias estadísticas entre los tratamientos inoculados, sin duda todos ellos fueron mejores que el testigo. En ese sentido el desarrollo radicular de las plantas inoculadas con HMA comparadas con plantas no inoculadas es una de las expresiones morfológicas que evidencia los beneficios de los HMA, así lo revelan múltiples investigaciones realizadas no sólo en café sino también en diversos cultivos.

6.8. Análisis de correlación de variables

El cuadro 13 muestra que las correlaciones entre la longitud de micelio extraradicular con las variables morfológicas de altura de planta y biomasa seca radicular de las plantas de cafeto, fueron ambas positivas y del tipo fuerte por pertenecer al rango de +0,6 a +0,79; y con respecto a las variables de área foliar y biomasa seca aérea también fueron positivas pero del tipo moderado por pertenecer al rango de +0,40 a +0,59 según Evans (1996).

Estas correlaciones se explicarían por los cambios de orden fisiológico ocurridos en las plantas inoculadas a causa de la simbiosis con los HMA-N que en consecuencia, luego de la colonización y del desarrollo del micelio extraradicular, fueron las que lograron incorporar los nutrientes necesarios para incrementar sus

tasas de crecimiento y desarrollo significativamente mayores en comparación con las plantas no inoculadas. Dichos incrementos se vieron reflejados en cada una de las variables morfológicas evaluadas y por ende en el análisis estadístico de esta investigación, los cuales fueron discutidos en cada una de las variables estudiadas.

El cuadro 13 muestra que existen correlaciones positivas y de tipo “fuerte” entre la longitud de micelio extraradicular y las variables morfológicas de altura de planta, área foliar, biomasa seca aérea y biomasa seca radicular. Este resultado nos sugiere que la longitud de micelio extraradicular ha influenciado en el crecimiento y desarrollo de las plantas de cafeto, y que los consorcios de HMA-N han sido efectivos en todos los tratamientos inoculados en comparación al testigo sin inóculo de HMA-N.

VII. CONCLUSIONES

- 7.1.** La inoculación de las plántulas de café con HMA-N permitió el establecimiento de la simbiosis; favoreciendo el crecimiento y desarrollo de las plantas de cafeto en la etapa de vivero. Siendo los consorcios más eficientes los tratamientos T9 (D. M. Olivos), T5 (M. Ángeles) y T8 (D. B. Vista).
- 7.2.** La multiplicación de esporas de HMA-N en el maíz (*Zea mays*), permitió el incremento desde un mínimo de 3 veces hasta un máximo de 9 veces la cantidad original de estos organismos en las fuentes de inóculo, así como su adaptación a las condiciones ambientales en las que desarrolló este estudio.
- 7.3.** El análisis de correlación entre la Longitud de Micelio Extraradicular y las demás variables morfológicas, demostró la existencia de una relación positiva entre los HMA-N y las plantas de cafeto en vivero, habiendo sido ésta de tipo fuerte con las variables de altura de planta y biomasa seca radicular, y de tipo moderado con respecto a las variables de área foliar y la biomasa seca aérea.
- 7.4.** Todos los tratamientos inoculados con HMA-N fueron colonizados por estos microorganismos hasta en 30%, sin diferencias significativas a excepción del T1 que alcanzó 13,83%. Los tratamientos con mejores resultados para la longitud de micelio radical fueron el T9 (D. M. Olivos) (148,72 cm), T5 (M. Ángeles) (133,14 cm) y el T8 (D. B. Vista) (123,94 cm).

VIII. RECOMENDACIONES

- 8.1.** Es necesario realizar el análisis de identificación y caracterización de esporas de HMA después de todo proceso de multiplicación, debido a los distintos ciclos de vida de los HMA.

- 8.2.** Realizar estudios con plantas inoculadas con HMA-N establecidas en campo definitivo, para determinar los beneficios de estos microorganismos en la productividad de las plantas de cafeto.

- 8.3.** Realizar análisis nutricionales a los plantones de cafeto para determinar las variaciones de los nutrientes.

IX. RESUMEN

El estudio se realizó en el Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana – San Martín (IIAP-SM). El objetivo fue de determinar el efecto de la inoculación de hongos micorrízicos arbusculares a plantones de café, (*Coffea arabica* L.) Variedad Caturra, a nivel de vivero. Para ello se utilizó el diseño completamente al azar (DCA), con 9 tratamientos (inoculados con HMA-N), y un tratamiento testigo (sin HMA-N), con nivel de significancia de $\alpha = 0,05$, probabilidad de error para determinar la naturaleza de las diferencias entre tratamientos. En el estudio, se realizó una inoculación con HMA-N en sustrato sólido, luego de que éstos fueran sometidos a un periodo de multiplicación durante 60 días en el cultivo de maíz (*Zea mays*). Para la obtención de nuestros resultados se evaluó las siguientes variables: multiplicación de HMA-N, porcentaje de colonización, longitud de micelio extraradicular, altura de planta, área foliar, biomasa seca aérea y biomasa seca radicular. Posterior a ello se realizó el análisis de correlación. Los resultados de este estudio mostraron que los consorcios más eficientes fueron los pertenecientes a los tratamientos T9, T5 y T8. Los cuales favorecieron significativamente el crecimiento y desarrollo de las plantas de cafeto en la etapa de vivero.

Palabras clave: Hongos micorrízicos arbusculares, inoculación, colonización, micelio, consorcio.

X. SUMMARY

The following research was conducted in Instituto de Investigaciones de la Amazonía Peruana - San Martín (IIAP-SM) Peruvian Amazonia Research Institute. The objective was to determine the effect of the inoculation of arbuscular mycorrhizal fungi to coffee saplings (*Coffea arabica* L.) variety Caturra, nursery level. The design used was completely randomized (DCA) with 9 treatments (inoculated with HMA-N), and a control treatment (without HMA-N), with significance level $\alpha = 0.05$, error probability to determine the nature of the differences between treatments. In the study, the inoculation was performed with HMA-N in solid substrate, before they were subjected in a period of multiplication for 60 days in maize (*Zea mays*). To obtain our results, the variables were: HMA-N multiplication, percentage of colonization, length of extraradicular mycelium, plant height, leaf area, aerial dry biomass and root dry biomass. Next, a correlation analysis was performed. The results of this study showed that the most efficient consortiums were those belonging to the T9, T5 and T8 treatments. This significantly favored the growth and development of coffee plants in the nursery stage.

Keywords: Arbuscular Mycorrhizal fungi, inoculation, colonization, mycelium, consortium.

XI. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott, L.K. y Robson, A.D. (1991). *Factors influencing the occurrence of vesicular arbuscular mycorrhizas*. Agri, Ecosyst Environment 36: 121-150.
- Adelman, M. J. y Morton (1986). *Infectivity of vesicular - arbuscular mycorrhizal fungi: Influence of host-soil diluent combinations on MPN estimates and percentage colonization*. Soil Biology and Biochemistry 18. 77-83.
- Aguín, O.; Mansilla, J. P.; Vilariño, A. and Sainz, M. J. (2004). *Effects of mycorrhizal inoculation on root morphology and nursery production of three grapevine rootstocks*. Am. J. Enol. Vitic. 51:108-111.
- Alarcón, A.; Ferrera-Cerrato, R.; Almaraz-Suárez J.J. y Villegas-Monter A. (1997). *Distribución de carbohidratos y fósforo en la simbiosis Citrus volkameriana-Glomus spp.* pp. 131. Memorias del XXVIII Congreso Nacional de la Ciencia del Suelo. Villahermosa, Tabasco.
- Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. (1996). *Dinámica de colonización y efecto de hongos endomicorrízicos sobre el crecimiento de Casuarina equisetifolia L.* pp. 298-302. Montecillo, México.
- Alarcón, A. y Ferrera-Cerrato, R. (1999). *Manejo de la micorriza arbuscular en sistemas de propagación de plantas frutícolas*. Montecillo, Estado de México
- Alexander, T.; Meier, R.; Toth, R. and Weber, H. (1988). *Dynamics of arbuscule development and degeneration in mycorrhizas of Triticum aestivum L. and Avena sativa L. with reference to Zea mays L.* New Phytologist 110: 363–370.
- Allen, B. E. (1995). *Patterns and regulation of mycorrhizal plant and fungal diversity*. Plant Soil 170: 447-462.
- Asociación Americana de Cafés Especiales (SCAA) (2015). Estados Unidos.

- Asociación Nacional del Café (ANACAFE) (1988). *Manual de caficultura*. Guatemala.
- Augé, R. (2001). *Water relations, drought and vesicular-arbuscular mycorrhizal symbiosis*. *Mycorrhiza* 11:3–42.
- Augstburger, F.; Berger, J.; Censkowsky U.; Heid, P.; Milz, J. y Streit, C. (2000). *Agricultura orgánica en el trópico y subtrópico – Café*. Alemania.
- Azcón-Aguilar, Concepción y Barea, J. (1997). *Applying mycorrhiza biotechnology to horticulture: significance and potentials*. *Scientia Horticulturae*.
- Bago, B.; Pfeffer, P. E. y Shachar-Hill, Y. (2000). *Carbon metabolism and transport in arbuscular mycorrhizas*. *Plant Physiology*.
- Baker, B. F. y Rivas (1992). *Life-history studies of the coffee berry borer (*Hypothenemus hampei*, Scolitidae) on coffee trees in southern Mexico*. *The Journal of Applied Ecology*.
- Barea, J. M. (1991). *Vesicular-arbuscular mycorrhizae as modifiers of soil fertility*. *Soil Sci.* 15:1-40.
- Barea, J. M., and Jeffries, P. (1995). *Arbuscular mycorrhizas in sustainable soil-plant systems*. In “Mycorrhiza, structure, function, Molecular Biology and Biotechnology” pp 521-560. Springer Verlag, Berlin Heidelberg.
- Barea, J. M. (2005). *Microbial co-operation in the rhizosphere*. *Journal of Experimental Botany*.
- Barea, J. M. (2003). *Las micorrizas arbusculares componente clave en la productividad y estabilidad de agroecosistemas*. Granada, España, 50 p.
- Barea, J.M.; Azcón-Aguilar, C.; Ocampo, J.A., y Azcón, R. (1991). *Morfología, anatomía y citología de las micorrizas vesículo-arbusculares*. Madrid.
- Benito, S. J. A. (1996). *Bases técnicas para el cultivo de café*. Ministerio de Agricultura INIA. Tarapoto – Perú. 44p.

- Berta, G.; Fusconi, A. and Trotta, A. (1993). *Vesicular-Arbuscular mycorrhizal infection and the morphology and function of root systems*. Environ. Exp. Bot. 33:159-173.
- Bethlenfalvay, J. G. (1992). *Mycorrhizae in the agricultural plant- soil system*. Review. Symbiosis. 14:413-425.
- Blanco, F. y Salas, E. (1997). *Micorrizas en la agricultura: contexto mundial e investigación realizada en Costa Rica*. Agronomía Costarricense.
- Bonfante-Fasolo, P. and Gripiolo, R. (1984). *Cytochemical and biochemical observations on the cell wall of the spore of Glomus epigaeum*. Protoplasma 123: 140-151.
- Brundrett, M.; Bougher, N.; Dell, B.; Grove, T., and Malajczuk, N. (1996). *Working with Mycorrhizas in forestry and Agriculture*. Aciar. Camberra. Australia.
- Bucher, M. (2006). *Functional biology of plant phosphate uptake at root and mycorrhiza interfaces*. New Phytologist_173: 11-26.
- Buee, M.; Rossignol, M.; Jauneau, A.; Ranjeva, R. y Becard, G. (2000). *The pre-symbiotic growth of arbuscular mycorrhizal fungi is induced by a branching factor partially purified from plant root exudates*. Molecular Plant-Microbe Interaction.
- Box, G. y Hunter, W. (1989). *Estadística para investigadores. Introducción al diseño de experimentos, análisis de los datos y construcción de modelos*. U.S.A. Ed. Reverté S.A. 675 p.
- Calzada, B. J. (1982). *Métodos estadísticos para la investigación*. Quinta edición. Lima-Perú.
- Camayo, G. B.; Chaves, J. A. and Jaramillo, A. (2003). *Desarrollo floral del cafeto y su relación con las condiciones climáticas*. Colombia.

- Camprubí, A. y Estaún, V. (2000). *Micorrizas arbusculares en producción agrícola*. Horticultura. Abril. España.
- Carvajal, J. A. (1972). *Cafeto - cultivo y fertilización*. Berna, Instituto Internacional de la Potasa. Lima. Perú. 141 pp.
- Cavagnaro, T.R.; Gao, L. L.; Smith, A. F. y Smith, S. E. (2001). *Morphology of arbuscular mycorrhizas is influenced by fungal identity*. New Phytologist.
- Colozzi-Filho, A. y Cardoso, E. (2000). *Detecção de fungos micorrizicos arbusculares em raízes de cafeeiro e de crotolária cultivada na entrelinha*. Pesquisa Agropecuária Brasileira.
- Charrier, A. and Berthaud. (1985). *Botanical classification of coffee*. Wesport, Connecticut. Pp: 13-47.
- Dávila, R. L.; Ramos, F. C. J.; Rosales, M. C. M. (2009). *Multiplicación de hongos micorrizicos arbusculares nativos de cultivo de cacao (Theobroma cacao) en maíz (Zea mays) bajo distintos tratamientos agronómicos*. Valledupar. España.
- Diz, R. (2008). *Métodos para evaluar normalidad y homogeneidad de varianza*. Relación con el tamaño de muestra. Universidad de Granma. Bayamo. Cuba.44p
- Díez-Rojo, M. A. (2006). *Fundamentos fitotécnicos para la aplicación de subproductos agrarios en la mejora de suelos cultivados*. Tesis. Universidad Politécnica de Madrid.
- Duke, J. A. (1983). *Handbook of energy crops*. Disponible en internet: www.hort.purdue.edu.
- Duke, S.; Jackson, R., and Caldwell, M. (1994). *Location of mycorrhizal arbuscule frequency in enriched soil microsites*. Canadian Journal of Botany 72, 998-1001.

- Escalona, A. M. A. (2002). *Interacción de plantas de café fertilizadas con fósforo e inoculadas con hongos micorrizicos arbusculares y Phoma costarricensis Echandi*. Tecomán, México.
- Escobar, A. C. J.; Zuluaga, P. J.; Colorado, G. G., y Paez, D. (1998). *Micorriza Vesícula Arbúscular (MVA) Recurso microbiológico para desarrollar una agricultura sostenible*. Bogotá. Colombia.
- Evans, D. and Miller, M. (1988). *Vesicular-arbuscular mycorrhizas and the soil disturbance induced reduction of nutrient absorption in Zea mays L.* Casual relations. New Phytologist 110, 67-74.
- Evans, J. D. (1996). *Straightforward statistics for the behavioral sciences*. Pacific Grove, CA: Brooks/Cole Publishing.
- FENIAGRO (2010). Federación de Cooperativas Agroindustriales de Nicaragua. *Innovación Tecnológica, capacitación y extensión en producción semi industrial y aplicación de inoculantes de hongos micorrízicos arbusculares (HMA) adaptados como bioabonos, bioprotectores y biorestauradores a modo de alternativa a la sequía y la mejora agroecológica nutricional y fisiológica de los sistemas de producción de las fincas de productores de café*. Managua.
- Ferguson, J., y Woodhead, H. (1982). *Production of endomycorrhizal inoculum*. An increase and maintenance of vesicular arbúscular mycorrhiza fungi. In Methods and principles of mycorrhizal research Ed. By N.C. Schench USA American Phytopathological Society. Vol; 2: pp: 47-53.
- Fernández, F. (1999). *Manejo de las asociaciones micorrízicas arbusculares sobre la producción de posturas de cafeto (Coffea arabica L. Var. Catuaí) en algunos tipos de suelos*. 102 pp., Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Inst. Nac. Cienc. Agrícolas, La Habana, MES.

- Fernández-Martín, F.; Rivera-Espinosa, R. A.; Hernández-Jiménez, A.; Herrera-Peraza, R. A.; Fernández-Suárez, K. (2005). *Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares y diferentes relaciones suelo: humus de lombriz sobre el crecimiento del cafeto (Coffea arabica L.) cv. Catuaí bajo la etapa de vivero*. Revista Chapingo serie horticultura-México.
- Franco, N. J. D. (2008). *Efectos beneficiosos de las micorrizas sobre las plantas*. Universidad de Sevilla. Disponible en Página Web: www.bioscripts.net.
- Font H. (2007). *Estudio de precisión en la variable producción de huevos en gallinas White Leghorn*. Tesis al título de Máster en Producción Animal. 84 p.
- Franken, P.; Donge, K.; Grunwald, U.; Kost, G.; Karl-Heinz, R.; Tamasloukht, M.; Waschke, H. y Zeuske, A. (2007). *Gene expression analysis of arbuscule development and functioning*. Phytochemistry, 68(1): 68-74.
- Fujita, M.; Fujita, Y.; Noutoshi, Y.; Takahashi, F.; Narusaka, Y.; Yamaguchi-Shinozaki, K.; Shinozaki, K. (2006). *Crosstalk between abiotic and biotic stress responses: a current view from the points of convergence in the stress signaling networks*. Curr Opin Plant Biol.
- Gerdemann J. W., Nicolson, T. H. (1963). *Spores of mycorrhizal Endogone species extracted from soil by wet sieving and decanting*. Trans. Brit. Mycol. Soc. 46, 235-244.
- Giovannetti, M., and Gianinazzi-Pearson, V. (1994). *Biodiversity in arbuscular mycorrhizal fungi*. Review Mycology Research. 98 (7): 705-715.
- González, D. M. (2007). *Producción de café en Honduras: Modelado de las relaciones Cafeto: Arbolado*. Honduras.
- Grace, C. y Stribley, D. P. (1991). *A safer procedure for routine staining of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi*. Mycological Research 95: 1160-1162.

- Guadarrama, C. P.; Sánchez, G. I.; Ramos, Z. J. y Hernández, C. L. (2008). *Infectividad, efectividad y dependencia micorrízica*. Tlaxcala. México.
- Habte, M. y Osorio, N. (2001). *Arbuscular mycorrhizas: producing and applying arbuscular mycorrhizal inoculum*. CTAHR, College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa, Honolulu, Hawaii. P: 2-47.
- Harley, J.L. (1971). *Fungi in Ecosystems*. The Journal of Ecology, 59(3): 653- 668.
- Harrison, M. J. (1997). *The arbuscular mycorrhizal symbiosis: An underground association*. Review Elsevier Trends Journal. 2(2): 54-60.
- Harrison, M. J. (2005). *Signaling in the arbuscular mycorrhizal symbiosis*. Annual Review of Microbiology.
- Hart, M. M. y Reader, R.J. (2002). *Taxonomic basic for variation in the colonization strategy of arbuscular mycorrhizal fungi*. New Phytologist, 153 (2): 335-334.
- Hayman, D.; Barea, J. y Azcon, R. (1976). *Vesicular arbuscular mycorrhiza in Southern Spain: its distribution in cross growing in soil of different fertility*. Phytopathologia mediterranea 15 (1): 1- 6.
- Helgason, T., y Fitter, A. H. (2009). *Natural selection and the evolutionary ecology of the arbuscular mycorrhizal fungi (Phylum Glomeromycota)*. Journal of experimental botany: 1-16.
- Hendrix, J.; Guo, B., y An, Z. (1995). *Divergence of mycorrhizal fungal communities in crop production systems*. Plant and Soil 170, 131-140.
- Hernández, C. L. V.; Guadarrama, C. P.; Sánchez, G. I. y Ramos, Z. J. (2008). *Micorriza Arbuscular: Colonización intraradical y extracción de esporas del suelo*. Tlaxcala. México.

- Hermard, C.; Labaca, C.; Jeres, G.; Sandoval, P y Ulloa, A. (2002). *Aspectos generales de las Micorrizas: Efecto de las micorrizas sobre la nutrición mineral de las plantas*.
- Hernández, D. A. (2003). *Micorrización temprana de portainjertos de frutales como alternativa biotecnológica para el control de nemátodos*. Tesis Doctoral. Universidad de Barcelona. 187 pp.
- Herrera, R. A. y Ferrer, R. L. (1984). *Glosario de términos en español relativos al estudio de las micorrizas vesículo-arbusculares*. Acta Botánica Cubana.
- Hildebrandt, U.; Regvar, M. y Bothe, H. (2007): *Arbuscular mycorrhiza and heavy metal tolerance*. Phytochem.
- Hoyos, L. (2013). *Impacto económico, social y ambiental causado por la roya amarilla del cafeto en la región San Martín*. Tarapoto – Perú.
- Jasper, A. y Davy, J. A. (1993). *Root characteristics of native plant species in relation to the benefit of mycorrhizal colonization for phosphorus uptake*. Plant Soil 155/156: 281-284.
- Jiménez, J. L. (1989). *Las micorrizas*. Asociación Nacional de Caficultores (ANACAFE) 305. Guatemala, C.A. 25 – 28 p.
- Koch, M.; Tanami, Z.; Bodani, H.; Wininger, S. and Kapulnik, Y. (1997). *Field application of vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi improved garlic yield in disinfected soil*. Mycorrhiza, 7, 47-50 p.
- León, V. D. (2006). *Evaluación y caracterización de micorrizas arbusculares asociadas a yuca (Manihot esculenta sp) en dos regiones de la Amazonía Colombiana*. Bogotá - Colombia.

- McGonigle, T. P.; Miller, M.H.; Evans, D. G.; Fairchild G.L. y Swan. J. A. (1990). *A new method wich gives an objective measure of colonization of roots by vesicular-arbuscular mycorrhizal fungi*. New Phytologist 115: 495-501.
- Medeiros, C., Clark, R., y Ellis, J. (1994). *Growth and nutrient uptake of sorghum cultivated with vesicular-arbuscular mycorrhiza isolates at varying pH*. Mycorrhiza 4, 185-191.
- Ministerio de Agricultura y Riego (MINAGRI). Dirección Regional de Agricultura San Martín. (2015). *Estadística del cultivo de café en San Martín*. Tarapoto-Perú.
- Molina, L. M., Mahecha, L. y Medina, M. (2005). *Importancia del manejo de hongos micorrizógenos en el establecimiento de árboles en sistemas Silvopastoriles*.
- Molina, R. H., y Massicote y Trappe, J. M. (1992). *Specificity phenomena in mycorrhizal symbiosis: community-ecological consequences and practical implications*, London. pp. 357-423.
- Newsham, K.; Fitter, A., and Watkinson, A. (1995). *Arbuscular mycorrhiza protect an annual grass from root pathogenic fungi in the field*. Journal of Ecology 83, 991-1000.
- Oehl, F.; Sieverding, E.; Palenzuela, J.; Ineichen, K.; y Alves da Silva, G. (2011). *Advances in Glomeromycota taxonomy and classification*. Ima Fungus. 191-196.
- Olalde, P. V. (1997). *Fisiología de plantas micorrizadas*. p. 51. In: Memorias del VI Congreso Nacional de Micología/IX Jornadas Científicas. Tapachula, Chiapas.
- Ordoñez, C. Y. M. (2009). *Interacción sinérgica entre hongos formadores de micorrizas arbusculares - Pseudomonas fluorescens y su relación en la nutrición vegetal de fósforo*. Tesis de Maestría en Microbiología. Universidad Nacional de Colombia Facultad de Ciencias. Bogotá.

- Ortas, I. (1996). *The influence of use of different rates of mycorrhizal inoculum on root infection, plant growth and phosphorus uptake*. Communication. Soil Science. Plant Annals. 27 (18-20), 2935-2946.
- Owusu-Bennoah, E. y Mosse, B. (1979). *Plant growth responses to vesicular arbuscular mycorrhiza*. XI. Field inoculation responses in barley, lucerne and onion. New Phytol 83: 671-679.
- Padrón, E. (1996). *Diseños experimentales con aplicación a la agricultura y la ganadería*. Ed. Trillas. México. 215 p.
- Parniske, M. (2008). *Arbuscular mycorrhiza: The mother of plant root endosymbioses*. Nature Review Microbiology. 6: 763-775.
- Paszkowski, U. (2006). *A journal through signalling in arbuscular mycorrhizal symbioses*. New Phytologist. 172: 35-46.
- Peña-Venegas, C. P.; Cardona, G. I.; Mazorra, A.; Arguellez, J. H., y Arcos, A. L. (2006). *Micorrizas Arbusculares de la Amazonía Colombiana*. Catálogo ilustrado. Instituto Amazónico de Investigaciones científicas SINCHI.
- Pérez-Solís, E. (2001). *Prospección y aplicación de micorrizas en especies vegetales autóctonas del matorral, para favorecer la revegetación de ecosistemas mediterráneos degradados*. Tesis Doctoral. Universidad de Granada. Granada, España. 156 p.
- Phillips, J. And Hayman, D. (1970). *Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular fungi for rapid assesment of infection*. Trans. Br. Mycol. Soc. 55: 158-161.
- Pozo, M. J. y Azcón-Aguilar, C. (2007). *Unraveling micorriza-induced resistance*. Plant Biol.

- Ramos, C. A.; Facanha, R. A.; Palma, M. L.; Okorokov, A. L.; Cruz, R. Z.; Silva, G. A.; Siqueira, F. A.; Bertolazi, A. A.; Canton, G. C.; Melo, J.; Santos, W. O.; Schimitberger, V. M. B., y Okorokova-Facanha, A. L. (2011). *An outlook on ion signaling and ionome of mycorrhizal symbiosis*. Plant Physiology. 23: 79-89.
- Redecker, D., Morton, J. B. y Bruns, T. D. (2000). *Ancestral lineages of arbuscular mycorrhizal fungi (Glomales)*. Molecular Phylogenetic Evolution. 14: 276-284.
- Requena, N., Jeffries, P., y Barea, J.M., (1996). *Assessment of natural mycorrhizal potential in a desertified semiarid ecosystem*. Applied and Environmental Microbiology 62:842-847.
- Reyes, J. I. (2011). *La micorriza arbuscular (MA) centro de la rizósfera: Comunidad microbiológica dinámica del suelo*. Departamento de Biología, División de CBS. UAM - Iztapalapa.
- Rivera, R.; Fernández, F.; Hernández, A.; Triana J., R., y Kalyane F. (2003). *EL manejo efectivo de la simbiosis micorrizica, una vía hacia la agricultura sostenible*. El caribe: Ciudad de La Habana. 160 p.
- Rivera, R; Fernández, F. y Sánchez, C. (1997): *Efecto de la inoculación con hongos micorrizógenos vesículo-arbusculares y bacterias rizosféricas sobre el crecimiento de las posturas de cafeto*. Cultivos Tropicales 18(3): 15-23.
- Rivera, R., y Fernández, K. (2003). *El manejo efectivo de la simbiosis micorrízica, una vía hacia la agricultura sostenible*. La Habana.
- Robles, C., Robles–Martínez, M. L. Y Monrroy-Díaz, F.B. (2008). *Crecimiento y nutrición del maguey mezcalero (Agave angustifolia Haw.), bajo condiciones de micorrización arbuscular*.

- Robles, M. L. (2006). *Análisis prospectivo del potencial micorrizico y la respuesta a la inoculación con hongos de micorriza arbuscular del Maguey Mezcalero (Agave angustifolia Haw.)*. Tesis de Maestría. Oaxaca de Juárez. México.
- Robles, C. (2009). *Variación temporal de la diversidad de hongos de micorriza arbuscular y el potencial micorrízico en especies silvestres de Agave en Oaxaca*. Instituto Politécnico Nacional (IPN). Oaxaca, México. 80pp.
- Rojas, L. (2010). *Respuesta del cultivo de pimentón (Capsicum annuum) a la inoculación con Glomus manihotis y Acaulospora lacunosa*. Maracaibo – Zulia.
- Ruiz, C. P. (2014). *Producción de Inoculantes de Hongos Micorrizicos Arbusculares*. (Comunicación personal).
- Ruiz, C. P. (1979). *Manual Práctico para el Cultivo del Café*. Centro Nacional de Investigación de Café. Colombia.
- Ruiz, P.; Rojas, K. y Sieverding, E. (2011). *La distribución geográfica de los hongos micorrízicos arbusculares*. Pucallpa – Perú.
- Saggin-Junior, O. J.; Siqueira, J. O.; Guimaraes, P. T. G., y Oliveira E. (1995). *Colonizao do cafeeiro por diferentes fungos micorrízicos: efeitos na farmacao das mudas e no crescimento em solo fumigado*. Revista Brasileira do Ciencia do Solo. 19, 213-220.
- Sánchez, P. M. (1999). *Endomicorrizas en agroecosistemas colombianos*. Universidad Nacional de Colombia. Sede Palmira.
- Sanders, I. R., and Fitter, A. H. (1992). *The ecology and functioning of vesicular-arbuscular mycorrhizas in co-existing grassland species II*. Nutrient uptake and growth of vesiculararbuscular mycorrhizal plants in a semi-natural grassland. New Phytologist 120, 525-533.

- Schüßler, A. (2014). Glomeromycota. Disponible en Internet: <http://schuessler.userweb.mwn.de/amphylo>. Citado por Marcel G. A. Van der Heijden, Francis M. Martin, Marc-André Selosse and Ian R. Sanders. Mycorrhizal ecology and evolution: the past, the present, and the future. Tansley review. New Phytologist.
- Sempere, F. y Santamarina, P. (2001). *La Aplicación de las Micorrizas*. Revista Agrícola Vergel; N° 232 de abril, pp. 198-201.
- Sieverding, E. (1984). *Aspectos básicos de la investigación de la micorriza vesículoarbuscular*. Investigaciones sobre micorrizas en Colombia-Palmira, Facultad de Ciencias Agropecuarias, Universidad Nacional, 1-14.
- Sieverding, E. (1991). *Vesicular Arbuscular Mycorrhizal in Tropical Agrosystems*. Federal Republic of Germany: Deutsche Gesellschaft für Technische Zusammenarbeit (GTZ). 371 p
- Sieverding, E y Barea, J. M. (1991). *Perspectivas de la inoculación de sistema de producción vegetal con hongos formadores de micorrizas vesículo arbusculares, en Fijación y movilización de nutrientes*. Fijación de N y micorrizas, pp. 221-245.
- Siqueira, J. O., y Franco A. (1988). *Biotecnología do Solo Fundamentos e Perspectivas*. Ciencias nos Trópicos Brasileiros. Serie Agronomía. 235 p.
- Siqueira, J. O.; Collozzi-Filho, A.; Saggin-Junior, O.; Guimaraes, P.T.G. (1993). *Crecimento de mudas e producao de cafeeiro sob influencia de fungos micorrízicos e superfosfato*. R. Bras. Ci. Solo 17: 53-60.
- Siqueira J. O., Saggin-Junior, O., Colozzi-Filho, A., y Oliveira, E. (1995). *Influencia do substrato de formacao e da micorriza no crescimento de mudas de cafeeiro trasplantadas*. Pesquisas Agropecuarias do Brasil. 1417-1425.

- Skipper, H. y Smith, G. (1979). *Influence of soil pH on the soybeans endomycorrhiza symbiosis*. Plant and Soil 53: 559-563.
- Smith, S. E., and Read, D. J. (1997). *Mutualism and Parasitism: biodiversity in function and structure in the arbuscular (VA) mycorrhizal symbiosis*. ADV. Bot 22: 1-43.
- Smith S. E., y Read, D. J. (1997). *Mycorrhizal symbiosis*. Academic, San Diego.
- Smith, S. and Read, D. (2008). *Mycorrhizal Symbiosis, Elsevier Edition*. Third Edition. 10-90.
- Smith, F. A., y Smith, S. E. (1997). *Structural diversity in (vesicular)-arbuscular mycorrhizal symbioses*. New Phytologist.
- Smith, S. E.; Smith, F. A., y Jakobsen, I. (2003). *Mycorrhizal fungi can dominate phosphate supply to plants irrespective of growth responses*. Plant Physiol.
- Soto, F. (1994). *Crecimiento de posturas de cafetos (Coffea arabica L.) influido por diferentes condiciones de vivero*. Tesis presentada en opción al grado científico de Doctor en Ciencias Agrícolas, Inst. Nac. Cienc. Agrícolas (INCA), La Habana, MES. 174 pp.
- Sylvia, D. M. y Williams, S. E. (1992). *Vesicular arbuscular mycorrhizae and environmental stress*. Pp.101.124. In: Bethlenfalvay GJ and RG Linderman (Eds.). *Mycorrhizae in sustainable agriculture*. ASA-Special Publication No. 54.
- Tena, S. A. (2002). *Presencia de HMA en plantas silvestres de suelos salinos en el estado de Colima*. Tesis de Maestría en Biotecnología. Tecomán – México.
- Trejo, D. A. (1997). *Ecología y comportamiento de la micorriza arbuscular en el cultivo de café (Coffea arabica L.)*. Tesis de maestría en ciencias. Universidad Nacional Autónoma de México. 131 p.
- Trejo, D.; Ferrera-Cerrato R.; García R.; Varela L.; Lara L. y Alarcón A. (2011). *Efectividad de siete consorcios nativos de hongos micorrízicos arbusculares en*

- plantas de café en condiciones de invernadero y campo*. Chile. Revista Chilena de Historia Natural 84: 23-31 p.
- Trouvelot, A., Kough, J. L., Gianinazzi – Pearson, V. (1996). *Mesure du taux de mycorrhization V.A. d' un systeme radiculaire. Recherche de méthodes d' estimation ayant une signification fonctionnelle*. Physiological and genetical aspects of mycorrhizae. Paris – France.
- Valencia, G. (1998). *Factores que afectan la productividad del cafeto, en Manual de nutrición y fertilización del café*. Instituto de la potasa y el fósforo (INPOFOS), Quito. 61 pp.
- Wright, D., Scholes, J. Y Read, D. (1998). *Effects of VA mycorrhizal colonization on photosynthesis and biomass production of Trifolium repens L. Plant, Cell and Environment*.
- Zangaro, W.; Vergal R. L., Bochi S. P.; Almeida, A. R.; Azevedo, M.; Lescano L.E., Berbel L. R. A.; Nogueira M.A., y Carrenho R. (2012). *Root colonization and spore abundance of arbuscular mycorrhizal fungi in distinct successional stages from an Atlantic rainforest biome in southern Brazil*. Mycorrhiza.
- Zapata, R. R. (2012). *La producción sostenible del café*. Resumen de la Segunda exposición de café Peruano. Lima-Perú. Disponible en internet: http://www.expocafeperu.com/archivos/2012/Alternativas_de_produccion_Sostenible_de_Cafe_Reiles_Zapata_Comercio_y_Cia.pdf

Linkografía:

Los Biofertilizantes s.f.e. Extraída el 12/02/14 desde http://agritech.tnau.ac.in/org_farm/orgfarm_biofertilizertechnology.html); hora 11:30 horas.

Ficha técnica y comercial del café”, 2007. Extraída el 8/7/14, desde <http://www.infocafes.com/descargas/biblioteca/264.pdf>; hora 20:00 horas.

Instituto de Café de Costa Rica s.f.e. Extraída el 17/8/14 desde http://www.erwindettling.ch/america/costa%20rica/radioreportagen/uebersicht/otto_kloeti/ManualPrepacafe.pdf

“Sistemas de producción de café” CENICAFÉ 2007. Extraída el 19/3/14 desde <http://www.cenicafe.org>

Componente recursos naturales, Arcos S. y Sigrun 2007. Extraída el 15/8/14 desde <http://www.infocafes.com/descargas/biblioteca/123.pdf>

Biodiversidad: Hongos micorrícico-arbusculares, José Alberto Ramos Zapata, Denis Marrufo Zapata, Patricia Guadarrama Chávez y Lilia Carrillo Sánchez 2011. Extraída el 20/06/15 desde <http://www.cicy.mx/Documentos/CICY/Sitios/Biodiversidad/pdfs/Cap4/07%20Hongos%20micorrozicos.pdf>

ANEXO

**Descripción de datos meteorológicos de la provincia de Lamas
– San Martín.**

PARA: IIAP – San Martín

ESTACIÓN: CO "LAMAS"

Latitud: 06° 16' Departamento: San Martín

PRECIPITACIÓN TOTAL MENSUAL EN (mm)

Longitud: 76° 42' Provincia: Lamas

AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	TOTAL
Altura: 920 m.s.n.m.								
2014	143,4	103,5	228,1	137,1	80,8	61,9	83,2	838

TEMPERATURA MÁXIMA EN °C								
AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	28,3	28	27,5	27,4	28,1	27,8	27,9	27,9

TEMPERATURA MÍNIMA EN °C								
AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	18,7	18,6	17,8	17,7	18	17,9	17,6	18

Fuente: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. 2014.



PERÚ

Ministerio
del AmbienteServicio Nacional de
Meteorología e Hidrología
del PerúDirección Regional
de San Martín

INFORMACION METEOROLOGICA
PARA: KAREN DEL AGUILA PARILLO
SEGÚN PROFORMA N° 49-DRE-09/2015

ESTACION: CO LAMAS

Latitud : 06° 16'
Longitud : 76° 42'
Altura : 920 m.s.n.m.

Departamento : SAN MARTIN
Provincia : LAMAS
Distrito : LAMAS

TEMPERATURA MEDIA MENSUAL EN °C

AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	DIC	TOTAL
2014	24.0	23.8	23.4	23.2	23.8	23.4	23.2	23.6	23.8	24.0	24.5	24.4	23.8

HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO MENSUAL EN %

AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	DIC	TOTAL
2014	84	85	87	87	85	86	86	84	85	85	83	82	85

NOTA: LA PRESENTE INFORMACIÓN METEOROLÓGICA SOLO SERA EMPLEADA PARA EL PROPÓSITO DE LA
SOLICITUD QUEDANDO PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL.

Tarapoto 05 de febrero del 2015



Ing. M.Sc. Felipe Huamán Solís
DIRECTOR REGIONAL
SENAMHI - SAN MARTIN

**Descripción de datos meteorológicos de la provincia El
Dorado – San Martín.**

PARA: IIAP – San Martín

ESTACIÓN: CO "ALAO"

Latitud: 06° 32'

Departamento: San Martín

Longitud: 76° 44'

Provincia: El Dorado

Altura: 420 m.s.n.m.m

Distrito: San Martín De Alao

PRECIPITACIÓN TOTAL MENSUAL EN (mm)								
AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	46,6	64,3	175,1	199	165,3	94,4	69	813,7

TEMPERATURA MÁXIMA EN °C								
AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	32,9	32,6	31	30,4	31,6	31,5	31,3	31,6

TEMPERATURA MÍNIMA EN °C								
AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	21,8	21,7	21,8	21,2	21,7	20,8	20,2	21,3

Fuente: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. 2014.



PERÚ

Ministerio
del AmbienteServicio Nacional de
Meteorología e Hidrología
del PerúDirección Regional
de San Martín

INFORMACION METEOROLOGICA
PARA: KAREN DEL AGUILA PARILLO
SEGÚN PROFORMA N° 49-DRE-09/2015

ESTACION: CO ALAO

Latitud : 06° 32'
Longitud : 76° 44'
Altura : 420 m.s.n.m.

Departamento : SAN MARTIN
Provincia : EL DORADO
Distrito : SAN MARTIN ALAO

TEMPERATURA MEDIA MENSUAL EN °C

AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	DIC	TOTAL
2014	26.5	26.4	25.4	25.0	25.9	25.2	25.0	25.1	25.2	25.4	26.5	26.5	25.7

HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO MENSUAL EN %

AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	DIC	TOTAL
2014	78	78	86	86	83	83	82	80	82	82	80	79	82

NOTA: LA PRESENTE INFORMACIÓN METEOROLÓGICA SOLO SERA EMPLEADA PARA EL PROPÓSITO DE LA
SOLICITUD QUEDANDO PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL.

Tarapoto 05 de febrero del 2015



Ing. M.Sc. Feline Huamán Solís
DIRECTOR REGIONAL
SENAMHI - SAN MARTIN

**Descripción de datos meteorológicos de la provincia de
Moyobamba – San Martín**

**PARA: IIAP – San Martín
ESTACIÓN: CO "MOYOBAMBA"**

Latitud: 06° 00'

Departamento: San Martín

Longitud: 76° 58'

Provincia: Moyobamba

Altura: 860 m.s.n.m.m

Distrito: Moyobamba

PRECIPITACIÓN TOTAL MENSUAL EN (mm)								
AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	192,4	131,8	255,4	210,3	59,5	73,4	52,1	974,9

TEMPERATURA MÁXIMA EN °C								
AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	27,8	26,7	27,8	27,9	28,9	28,6	29	28,1

TEMPERATURA MÍNIMA EN °C								
AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	TOTAL
2014	19,3	19,1	19,4	19,2	19,5	18,9	18	19,1

Fuente: Servicio Nacional de Meteorología e Hidrología del Perú. 2014.



PERÚ

Ministerio
del Ambiente

Servicio Nacional de
Meteorología e Hidrología
del Perú

Dirección Regional
de San Martín

INFORMACION METEOROLOGICA
PARA: KAREN DEL AGUILA PARILLO
SEGÚN PROFORMA N° 49-DRE-09/2015

ESTACION: CO MOYOBAMABA

Latitud : 06° 00'
Longitud : 76° 58'
Altura : 860 m.s.n.m.

Departamento : SAN MARTIN
Provincia : MOYOBAMBA
Distrito : MOYOBAMBA

TEMPERATURA MEDIA MENSUAL EN °C

AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	DIC	TOTAL
2014	22.7	22.1	22.6	22.5	23.1	22.9	22.4	22.7	22.6	23.0	23.9	22.9	22.8

HUMEDAD RELATIVA PROMEDIO MENSUAL EN %

AÑO	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SET	OCT	NOV	DIC	TOTAL
2014	84	88	86	86	84	82	82	79	82	82	81	85	83

NOTA: LA PRESENTE INFORMACIÓN METEOROLÓGICA SOLO SERA EMPLEADA PARA EL PROPÓSITO DE LA
SOLICITUD QUEDANDO PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL.

Tarapoto 05 de febrero del 2015



Ing. M.Sc. Felipe Huamán Solís
DIRECTOR REGIONAL
SENAMHI - SAN MARTIN

Análisis físico químico de las zonas de muestreo de HMA-N

Análisis Físico - Químico de suelos (Lamas, Moyobamba y el Dorado)											
N°	FUENTES DE INÓCULO		pH	N %	M.O. %	P %	K %	Arena %	Limo %	Arcilla %	Clase Textural
	PROVINCIA	MUESTRA									
1	LAMAS	Chirapa	3,97	0,18	2,15	3,9	50	75	19	6	Fr, A.
2		Aviación	3,22	0,23	5,22	5,1	157	71	17	12	Fr, A.
3		Chontalillo	3,97	0,32	5,36	3,7	146	73	19	8	Fr, A.
4	MOYOBAMBA	Calzada	3,32	0,32	7	3,7	124	61	31	8	Fr, A
5		Los Angeles	4,12	0,55	7,04	4,5	281	31	35	34	Fr, Ar
6		Potrerillo	3,41	0,37	5,7	5,4	160	79	17	4	A, Fr
7	EL DORADO	Nueva Juventud	7,01	0,49	6,46	9,4	482	33	41	26	Fr.
8		Buena Vista	5,6	0,43	5,7	5,5	373	33	47	20	Fr.
9		Monte de los Olivos	4,48	0,42	5,49	6,3	147	55	37	8	Fr, A.

Universidad Nacional Agraria La Molina. 2014.

Condiciones de temperatura y humedad relativa en Vivero de plántones de Cafeto.

Año	Mes	Temperatura Promedio	Temperatura Máxima	Temperatura Mínima	Humedad Relativa Promedio
2014	Diciembre	28.57	36.97	21.12	87.88
2015	Enero	27.97	37.70	20.80	89.20
2015	Febrero	28.72	38.20	20.80	88.50
2015	Marzo	29.60	38.02	21.10	89.03

Fuente: Proyecto Biorestauración de suelos con HMA-N en fincas cafetaleras con cafés arábicos (*Coffea arabica* L.) En la Amazonía Peruana. Reátegui y Delgadillo. 2014-2015.